

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit EURATOM
München

(Leiter: Priv. Doz. Dr. S. Thierfelder)

Cytochemie an Phytohämagglutinininkulturen von Mononukleose-Patienten

Dissertation

zur

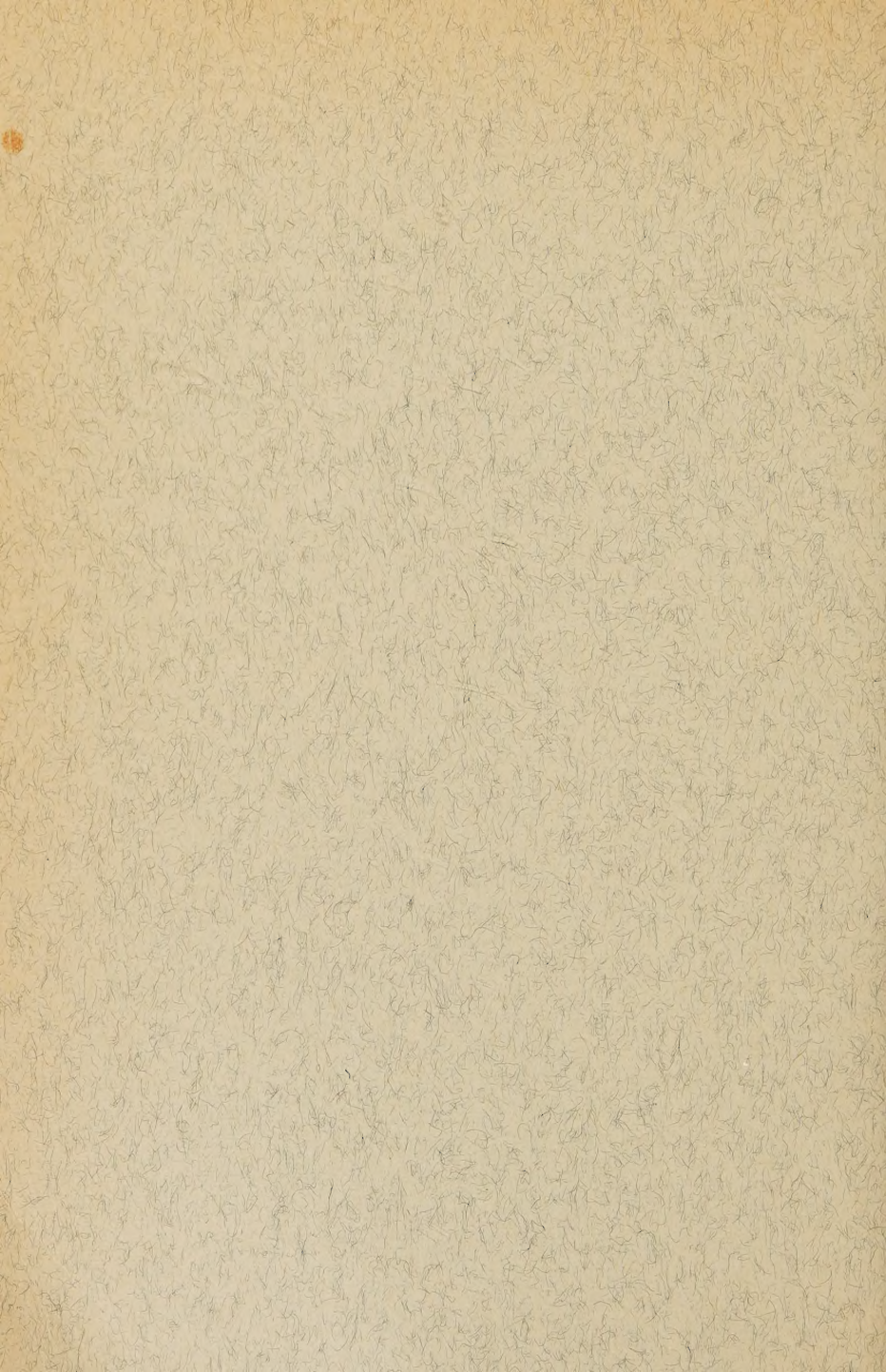
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Andràs Kain

aus Budapest

1973



Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit EURATOM
München

(Leiter: Priv. Doz. Dr. S. Thierfelder)

Cytochemie an Phytohämagglutinininkulturen von Mononukleose-Patienten

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Andràs Kain

aus Budapest

Referent: Prof. Dr. med. Irene B O L L

Korreferent: Prof. Dr. med. Hermann M I C H E L

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 18. 4. 1973

Meinem Vater



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	<u>Seite</u>
Einleitung	1
Methodik und Material	5
Ergebnisse	15
Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion	51
Zusammenfassung	57
Literaturangaben	58

E I N L E I T U N G

Die infektiöse Mononukleose, auch Pfeiffersches Drüsenfieber genannt (PFEIFFER, E., 1889), ist eine Krankheit mit mannigfaltigem Erscheinungsbild. Zu akutem Fieber, Drüsen- und generalisierter Lymphknotenschwellung, Angina tonsillaris und in 50% der Fälle einem Milztumor kommt weniger häufig eine Leberschwellung mit oder ohne Parenchymikterus (36).

80% der Fälle betreffen Patienten zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr, 10% der Fälle zwischen dem 45. und 55. Das männliche Geschlecht wird von der Krankheit bevorzugt befallen (4).

Die Diagnose wird klinisch gestellt durch die Trias: Fieber, Angina tonsillaris und generalisierte Lymphknotenschwellung mit Milztumor. Beweisend ist das bunte Blutbild mit seinen bis zu 80% atypischen mononukleären Zellen (AMZ) (9). Der serologische Nachweis erfolgt mit dem PAUL-BUNNEL-Test. Diese Seroreaktion ist in 80% positiv.

Der Erreger steht dem Herpesvirus nahe (EPSTEIN-BARR-Virus). Die Inkubationszeit beträgt im allgemeinen 5-12 Tage (4, 9, 28, 36).

Eine spezielle Behandlung ist nicht bekannt, die Therapie richtet sich gegen die Virusinfektion mit Chloramphenicol, Aureomycin und Tetracyclin. Die Prognose ist grundsätzlich gut.

Die atypischen mononukleären Zellen (AMZ) (9) (auch Lymphoidzellen (24), atypische Lymphocyten (3) oder infektiöse Mononukleose-Zellen (IM-Zellen) (6) genannt), die im Blutbild des infektiösen Mononukleose-Patienten stark vermehrt sind, kommen im Blut gesunder Erwachsener in 4-5% vor (24).

NOWELL beobachtete (30), daß Phytohämagglutinin (PHA), ein Protein aus einer Bohnenart (*Phaseolus vulgaris*), peripherem Blut Gesunder zugesetzt, eine Transformation von 70-90% der Blutlymphocyten bewirkt. Die Lymphocyten entwickeln sich zu blastenartigen Zellen, die RNS und DNS synthetisieren und sich dann mitotisch teilen.

Dieser Entdeckung folgte ein intensives Studium des Lymphocyten in Blutkulturen (1, 2, 3, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 26, 27, 32).

Der Häufigkeitsgipfel sowohl dieser blastenartigen Zellen als auch deren Mitoserate liegt zwischen dem 2. und 3. Tag. Die Gesamtzellzahl, die während der Züchtung bis zum 3. Tag ständig abnimmt, steigt bis zum 5. Tag wieder an, unter gleichzeitiger Zunahme von Lymphocyten (1, 2, 16).

PEARMAIN und LYCETTE (3, 6, 17) fanden eine gewisse Ähnlichkeit zwischen den Lymphoidzellen (wie sie bei Mononukleose spontan vorkommen) und den in mit PHA stimulierten Lymphocytenkulturen entstandenen Blasten. Sie wiesen nach, daß die peripheren Blutleukocyten von Patienten mit infektiöser Mononukleose sich bei der in vitro Kultur ohne PHA wie stimulierte Lymphocyten verhalten können.

Autoradiographische Untersuchungen von EPSTEIN und BRECHER (3), SCHMID und MOESCHLIN (3) ergaben, daß die Lymphoidzellen in vivo eine erhöhte DNS-Synthese haben. Andererseits konnte RUBIN nachweisen (27), daß der PHA-Zusatz für die RNS-Synthese der Lymphoidzellen toxisch ist.

Die Proliferation von Lymphocyten der Mononukleosis infektiosa wurde von COOPER, HALE und MILTON (14) in vitro untersucht. Es fand sich eine deutliche Anregung der anfänglichen DNS-Synthese der Zellen bei der PHA-Kultur.

Mit den Methoden der Cytochemie gelingt es, mit normal- und pathoanatomischen mikroskopischen Untersuchungen über die morphologischen Gesichtspunkte hinaus sichtbare Erscheinungen auch chemisch zu differenzieren und zu interpretieren. Das Prinzip dieser Technik ist die färberische Darstellung von bestimmten Substanzen in der Zelle und ihre quantitative Erfassung (13, 23).

Während in den Lymphocyten geringe Mengen an saurer Phosphatase, unspezifischer Esterase und PAS nachweisbar (19, 32) und keine Peroxydase zu finden ist (3), unterscheidet sich die Cytoche-

mie der Mononukleosezellen nach Beobachtungen von SCHMALZL, CIRESA und BRAUNSTEINER (35) lediglich dadurch, daß saure Phosphatase reichlicher nachgewiesen werden konnte, Peroxydase aber nur in sehr wenigen Zellen.

Bei cytochemischen Untersuchungen an Phytohämagglutinininkulturen fanden FISCHER und GROPP (18), daß die stimulierten blastenartigen Zellen eine Enzymausstattung besitzen, die weitgehend der in den Lymphocyten und den beobachteten Übergangsformen, den stimulierten Lymphocyten entspricht. Ferner beobachteten diese Autoren (19), daß die Umwandlung kleiner Lymphocyten zu blastenartigen Zellen mit einer Zunahme der sauren Phosphatase und alpha-Naphthylacetat-Esterase einhergeht. ROSENSZAJN und FISCHER (32) kamen zum selben Ergebnis, während BRITTINGER, KÖNIG, COHNEN und ABERLE (12) eine Verminderung der mittleren Aktivitäten der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und β -Glucuronidase in den PHA-stimulierten Lymphocytenkulturen beobachteten.

Über die Herkunft der Lymphoidzellen, die Zugehörigkeit in das lymphatische oder mononukleäre System besteht Unklarheit (6, 24, 35, 37).

Da sich das infektiöse Mononukleose-Blutbild durch den hohen Prozentsatz der Lymphoidzellen auszeichnet, bieten sich Phytohämagglutinininkulturen von diesen Patienten zur Klärung der Frage, ob diese Zellart, ebenso wie die Lymphocyten, zur Transformation zu blastenartigen Zellen befähigt ist, an. Diese Frage ist unseres Wissens noch nicht untersucht.

Stichproben von Differential-Verteilungen scheinen wegen der geringen morphologischen Kriterien nicht ausreichend. Aus diesem Grunde werden absolute Zellzählungen und cytochemische Untersuchungen mit herangezogen. Unter Zuhilfenahme der quantitativen Ermittlung des Fermentgehaltes an α -Naphthylacetat-Esterase, saurer Phosphatase, Peroxydase und der PAS-positiven Substanzen werden neben der Pappenheim-Färbung Blutkulturen mit Phytohämagglutinin-Zusatz von Mononukleose-Patienten untersucht.

Dabei ergeben sich folgende Fragen:

1. Wie verhalten sich die Lymphoidzellen cytochemisch?
2. Liegen Unterschiede bei der PHA-Stimulierung von Blutkulturen der Mononukleose-Patienten im Gegensatz zu anderen Blutkulturen vor?
3. Wie verhalten sich die durch Phytohämagglutinin stimulierten Kulturen der Mononukleose-Patienten cytochemisch im Vergleich zu denen mit normalen Lymphocyten?
4. Läßt sich eine Stimulierbarkeit der Lymphoidzellen durch PHA aus den Befunden wahrscheinlich machen?

M E T H O D I K U N D M A T E R I A L

Das Venenblut von Patienten wird in einer mit Heparin (Lique-mine-Originallösung) befeuchteten 20 ml-Spritze abgenommen und ein Sofortausstrich auf Objektträgern angefertigt. Nach Trocknung wird er nach PAPPENHEIM gefärbt.

Das heparinisierte Venenblut wird in einem 50 ml-Röhrchen für einige Stunden bei 37° C aufbewahrt. Das dann überstehende leukocytenreiche Plasma wird abpipettiert und auf 2000-3000 Leukocyten/ml eingestellt. Jetzt werden Proben entnommen, bei 1920 g 10 min zentrifugiert für die Färbungen der Originalausstriche.

Das auf 2000-3000 Leukocyten/ml eingestellte Plasma wird mit TC Medium Eagle-Lösung auf 10 ml aufgefüllt, mit 2 Tropfen Phyto-hämagglutinin P-Lösung der Firma Difco und 5 Tropfen einer 0,9%igen Kochsalzlösung, mit 2 mg Binotal und 400 g/ml Streptothenat versetzt. Dieser Kulturanatz wird in 25 ml-Kölbchen gegeben, um eine möglichst große Gasphase über der Flüssigkeitskultur zu erhalten, und bei 37° C im Brutschrank inkubiert.

Jeweils nach 3, 5 und 7 Tagen werden der Kultur Proben entnommen, bei 1920 g 10 min zentrifugiert und je ein Ausstrich nach PAPPENHEIM und nach spezifischen Färbemethoden gefärbt (10).

Für die absoluten Zellzählungen wird gleich nach dem Kulturanatz und am 3., 5. und 7. Kulturtag eine Leukocyten-Pipette bis zur Marke 1 aufgezogen. Sie wird mit TÜRK'scher Lösung bis zur Marke 11 aufgefüllt und gut geschüttelt. Es werden 3-5 Tropfen auf Zellstoff abgetupft, dann eine SCHILLING'sche Zählkammer gefüllt. 4 Außenquadrate werden gezählt (= 16 kleinst-Quadrate).
Ergebnis: Zellzahl x 100/4.

Da die absoluten Zellzählungen unabhängig von den Differential-Zählungen durchgeführt wurden, vermerkten wir die Zellzahlen am 7. Tag auch in den Abbildungen V und XVI (Seite 25 und 45), obwohl wir hier am 7. Tag der Kulturen keine verwertbaren Zellen mehr fanden.

Ausführung der PAPPENHEIM-Färbung:

Luftgetrockneten Ausstrich mit May-Grünwald-Lösung übergießen.
3 min einwirken lassen, abspülen mit Aqua dest.

Giemsa-Lösung 1 : 5 verdünnen, aufgießen, 5 min einwirken lassen.
Abspülen mit Aqua dest., lufttrocknen.

Die Spezialfärbungen wurden wie folgt angefertigt (8):

I. Saure Phosphatase (SP) nach LÖFFLER und BERGHOFF. Die Technik ist folgende:

1. Fixierung: Die luftgetrockneten Blutausstriche werden 30 sec in kaltem (7°C) 60%igen Aceton fixiert, anschließend 3 min in fließendem Leitungswasser gespült und erneut luftgetrocknet.
2. Inkubation: Die Inkubationslösung besteht aus:
80 mg NA-alpha-Naphthylphosphat (Substrat),
80 mg Echtgranatsalz GBC (Diazoniumsalz),
80 cm³ Veronal-Acetat-HCl-Puffer nach Michaelis pH 6,3-6,5.

Das Substrat und das Diazoniumsalz wird in dem Puffer gelöst, gut vermischt und durch einen Papierfilter in eine Cuvette filtriert. In diese frisch angesetzte Inkubationslösung werden die Ausstriche 60 min eingestellt.

3. Kernfärbung: Nach der Inkubationszeit werden die Ausstriche aus der Cuvette genommen, 3 min in Leitungswasser gespült und dann in die Hämalaunlösung nach Mayer 8 min zur Kernfärbung eingestellt. Anschließend noch 15 min in Leitungswasser bläuen und die Ausstriche mit Glycerin-gelatine eindecken.

II. Alpha-Naphthylacetat-Esterase (E) nach LÖFFLER. Unter den vielen angegebenen Verfahren zur Darstellung der alpha-Naphthylacetat-Esterase hat sich die folgende Färbetechnik bewährt. Die Präparate müssen, wie bei anderen Fermentreaktionen, innerhalb von 4 Tagen verarbeitet oder in Aluminium-folie bei $+6^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt werden.

1. 4 min fixieren in Formaldampf.
2. 2 min in Leitungswasser fließend wässern, dann luft-trocknen.

3. Etwa 30 sec in chemisch reinem Äther entfetten.
4. 30 min in die jeweils frisch bereitete Inkubationslösung einstellen.
Die Lösung besteht aus: 10 mg alpha-Naphthylacetat in 0,2 ml chemisch reinem absolutem Aceton gelöst, 40 ml 0,1 m Phosphatpuffer pH 7,8-8,0; 50 mg Echtblausalz BB (extra konzentriert). Das Gemisch wird in eine Cuvette filtriert, in die die Präparate eingestellt werden.
5. Wieder in Leitungswasser fließend spülen.
6. Kernfärbung mit Hämalaun nach Mayer 8 min lang.
7. Mindestens 15 min in fließendem Leitungswasser bläuen.
8. Mit Gelatinol eindecken.

III. Peroxydase-Reaktion (POX) nach GRAHAM-KNOLL und UNDRITZ .
Ausführung der Färbung:

1. Fixation der luftgetrockneten Präparate in Formalin-Alkohol (10 Teile Formalin 35% auf 90 Teile Äthylalkohol 96%) für 5 min.
2. Gründlich mit Aqua dest. spülen, bis keine Schlieren mehr vorhanden sind.
3. Peroxydasereagens für 5 min.
4. Gut mit Aqua dest. spülen.
5. Gegenfärbung mit Giemsa 1 : 20 für 20 min.
6. Lufttrocknen.

Die Peroxydase wird wie folgt hergestellt:

1. Peroxydasereagens: 250 mg Benzidin in 36 ml 96%igem Äthylalkohol auflösen; 6 ml dieser Benzidin-Alkohol-Lösung mit 4 ml Aqua dest. verdünnen.
2. 0,02 ml einer 3%igen H_2O_2 -Lösung zusetzen.
Wir stellen das Peroxydasereagens vor jeder Färbung neu her. Nach Zugabe von H_2O_2 muß die Lösung mindestens 30 min stehen.

IV. PAS-Reaktion modifiziert nach HOTCHKISS-McMANUS (LEHNARZT) (1956):

1. Mindestens 1 Tag lufttrocknen.
2. 10 min Methanol fixieren.
3. Mit Aqua dest. abspülen.
4. 8 min 0,5%ige Perjodsäure.
5. Mit Aqua dest. abspülen.

6. 20 min Schiffssches Reagens.
7. Mit SO_2 -Wasser nach Spannhoff gut abspülen.
8. Mit Aqua dest. gut abspülen.
9. 10 sec Kernfärbung mit Löfflers Methylenblau 1 : 1.
10. Aqua dest. gut abspülen und trocknen.

Das Schiffssche Reagens setzt sich aus folgenden Anteilen zusammen:

1. 2,5 g basischer Pararosanilin,
2. 75,0 ml n-HCl,
3. 425,0 ml Aqua dest.,
4. 2,5 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (Kaliumthiosulphat).

Diese Reagenzien werden gemischt und bis zum Aufkochen erhitzt. Anschließend läßt man etwas abkühlen und fixiert die Lösung. Ist die Farbe gelblich bis schwach grün, so ist das Reagens brauchbar. Erfolgt ein Farbumschlag ins Orange bis Violette, so ist es unbrauchbar.

Die Zusammensetzung des SO_2 -Wassers erfolgte nach einer Empfehlung von Spannhoff:

1. 6 ml 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (Natriumthiosulphat),
2. 5 ml 1 n-HCl,
3. 100 ml Aqua dest.

Die Reagenzien werden gut gemischt. So zubereitet ist das S_2O -Wasser sofort gebrauchsfertig. Normalerweise ist die S_2O -Lösung glasklar. Erfolgt ein Farbumschlag ins Rosa bis Orange, so ist das Reagens zu verwerfen.

Es wurden von uns folgende Zellen differenziert:

Neutrophiler, stabkerniger Granulocyt:

Der Kern ist langgezogen und hufeisenförmig gebogen, oft schon weitgehend pyknotisch. Das Protoplasma ist leicht oxyphil mit neutrophilen Granula.

Die neutrophilen, stabkernigen Granulocyten wurden in die Gruppe der neutrophilen, segmentkernigen Granulocyten eingeteilt.

Neutrophiler, segmentkerniger Granulocyt:

Er unterscheidet sich vom stabkernigen Granulocyten durch den in meist 4 Segmente unterteilten Kern. Die Segmente sind.

durch dünne Fäden miteinander verbunden. Mindestens besteht eine Verdünnung des Kerns auf $1/3$ an einer Stelle.

Basophiler, segmentkerniger Granulocyt:

Die basophilen, groben Granula bedecken meist sehr dicht den zweisegmentierten Kern und das Protoplasma.

Eosinophiler, segmentkerniger Granulocyt:

Meist sind nur zwei, selten drei Segmente vorhanden.

Eosinophile Granula breiten sich über die ganze Zelle aus.

Promonocyt:

Sein größerer, runder oder ovaler Kern mit der zarten, lockeren Chromatinstruktur liegt meist zentral, vom rauchgrauen, nicht granulierten Protoplasma umgeben.

Monocyt:

Sein heller Kern kann sich in verschiedenen Formen darbieten: eingebuchtet, gelappt oder stabförmig. Sein Chromatin zeigt eine zarte, lockere Struktur. Das Protoplasma ist rauchgrau gefärbt und manchmal fein azurophil granuliert.

Lymphoidzelle:

Es werden (nach JORKE (24)) zwei Arten von Lymphoidzellen unterschieden: Auf der einen Seite stehen die hellen, großen bzw. kleinen Lymphoidzellen mit einer lockeren, fast schwammartig porösen Kernstruktur, 3-6 hellen Nukleoli und relativ viel, hellem, schwach basophilem, zerfließlichem und zum Teil vacuolisiertem Plasma.

Auf der anderen Seite finden sich die stark basophilen, großen bzw. kleinen Lymphoidzellen mit dichter Kernstruktur. Während die großen basophilen Lymphoidzellen große Nukleoli besitzen, stellt sich der Kern der kleinen Lymphoidzellen lymphocytenähnlich, kompakt und meist ohne Nukleolus dar.

Die herausgestellten Formen sind jedoch nur Häufungen innerhalb der Zellreihe mit allen Übergängen und Zwischenformen.

Diese zwei Arten wurden beide gemeinsam als Lymphoidzelle differenziert.

Lymphocyt:

Der dunkle, rotviolette Kern des Lymphocyten ist rund, oval

oder auch eingebuchtet. Er ist schollig strukturiert. Das hellblaue Protoplasma umgibt ihn nicht immer vollständig und kann manchmal nur in sehr spärlichen Resten vorhanden sein. Kern- $\emptyset$ = 6 μ .

Virocyt:

Als Virocyt werden alle Lymphocyten, die azurophile Granula im Protoplasma aufweisen, bezeichnet.

Stimulierter Lymphocyt:

Im Vergleich zum Lymphocyten hat sowohl der Kern als auch das Protoplasma an Größe, letzteres auch an Basophilie zugenommen. Der Kern ist dunkler violett, enthält 2-3 dichtere Nukleoli und kann verschiedene Formen annehmen und zwar rund, länglich und oval. Das Protoplasma ist dunkelbasophil und umgibt nicht immer den ganzen Kern.

Immunoblasten:

kleine: Der Kern ist dunkelviolett und schollig strukturiert. Der Durchmesser des Kerns liegt in der Größenordnung 7,0-8,5 μ . Er liegt exzentrisch im dunkelblauen Protoplasma und weist deutlich erkennbare Nukleoli auf.

große: Im Vergleich zu den kleinen Immunoblasten ist der Kern größer (Durchmesser ca. 8,5-12 μ), lockerer, netzig strukturiert, heller und kann verschiedene ovale Formen annehmen, enthält auch Nukleoli. Das Protoplasma wird ausgehnter und hell- bis dunkelbasophil. Die Oberfläche kann gezähnt sein. Relativ oft finden sich eine oder mehrere kleine oder große Vakuolen im Cytoplasma.

Retikulumzelle:

Die in der Regel runden oder auch ovalen, großen Kerne der Retikulumzellen sind sehr locker netzig strukturiert und weisen meist 1-2 Nukleoli auf. Ihr Protoplasma ist von zart hellblauer oder -rosa Farbe und nach außen oft so undeutlich abgegrenzt, daß die Größe der Zelle nicht zu bestimmen ist. Oft liegen die Kerne nackt da, weil sie beim Ausstreichen getrennt wurden.

Die Unterscheidung zwischen beschädigten, großen Immunoblasten und den Retikulumzellen fällt oft schwer, da je größer die Immunoblasten sind, desto retikulärer ist das

Aussehen ihrer Kerne.

Um die Beeinflussung der Mitosehäufigkeit durch PHA festzustellen und Mitose-Indices bilden zu können, wurden die Zellteilungen, die in den ausgezählten Gesichtsfeldern entdeckt wurden, registriert.

Wir unterscheiden nach BOLL (7) folgende Mitosephasen:

1. Prophase:

Die Kernmembran ist aufgelöst. Die Kernsubstanz ist aufgelockert. Es besteht noch ein festes Spirem, keine Nukleolen.

2. Frühe Metaphase:

Die nun gut sichtbaren Chromosomen sind über die früheren Kerngrenzen hinaus verteilt. Das feste Spirem ist zum lockeren Spirem geworden.

3. Späte Metaphase:

Die Chromosomen sind zur Äquatorialplatte bzw. zum Monaster angeordnet.

4. Anaphase:

Bis zu den Spindelpolen auseinanderweichende Chromosomen bilden in der meist ovalen Zelle einen Diaster.

5. Telophase:

Die nun getrennten Chromosomen bilden ein lockeres Dispirem. Das Protoplasma zeigt eine deutliche Einschnürung.

6. Rekonstruktionsphase:

Das Dispirem hat sich gefestigt. Die fast getrennten beiden Zellen stehen nur noch über ein schmales Plasmafädchen oder gar nicht miteinander in Verbindung. Die Zellen haben noch keine Kernmembran und keine Nukleolen ausgebildet.

Auswertung der Spezialfärbungen:

Die Zahl der in den einzelnen Aktivitätsstufen (0-4) eingeordneten Zellen wird multipliziert mit ihrer Aktivitätsstufe. Die so erhaltenen 5 Zahlen werden addiert, deren Summe mit 100 multipliziert und durch die Zahl der ausgewerteten Zellen dividiert. Als Ergebnis dieser Rechnung werden die Indices erhalten und für jede Zellart gesondert angegeben.

Für die saure Phosphatase und alpha-Naphthylacetat-Esterase werden die Aktivitätsstufen nach ROSENSZAJN eingeteilt:

Stufe 0: Zellen ohne sichtbare Fermentreaktion; keine Granula

- 1: 1-3 große Granula oder 1-5 kleine Granula
- 2: 4-6 große Granula oder 6-10 kleine Granula
- 3: 7-9 große Granula oder 11-15 kleine Granula
- 4: Zellen mit zahlreichen großen und kleinen Granula.

Für die Peroxydase werden die Aktivitätsstufen folgendermaßen eingeteilt:

Stufe 0: keine Reaktion

- 1: wenige gelbe bis braune Granula im Cytozentrum
- 2: die Zelle enthält zur Hälfte Granula
- 3: die Zelle ist diffus mit locker gesäten Granula angefüllt
- 4: homogene Ausfüllung der gesamten Zelle mit dunkelbraunen Granula.

Für die PAS-Reaktion werden die Aktivitätsstufen, modifiziert nach KAHN, wie folgt eingeteilt:

Die nicht positiven Zellen bekommen die Stärke 0 = negativ, danach gliedern sich mit zunehmender PAS-Positivität die Stufen:

schwachrosa	= +
granulär-rosa	= ++
grob-schollig rot bis violett	= +++

Wir setzen statt der Klassifizierung +, ++, +++ die Zahlen 1, 2, 3 ein.

Die Differenzierung der Blutzellen ist bei den Spezialfärbungen nicht so einfach wie bei der PAPPENHEIM-Färbung, da wichtige Kriterien für die Einstufung der Zellen entfallen. Bei unseren Färbemethoden muß das Augenmerk besonders auf die Zellgröße, die Kernstruktur, -form, -größe und die Kern-Plasma-Relation gerichtet werden.

Zur Auswertung der Spezialfärbungen ist noch Folgendes zu sagen:

1. Da die Lymphocyten und die stimulierten Lymphocyten am 3. Tag der Kultur für die Auswertung der Spezialfärbungen angewandten Kriterien sehr schwer auseinanderzuhalten sind, beziehen sich die in den Tabellen vermerkten Aktivitäten am 3. Tag nur auf die stimulierten Lymphocyten. Am 5. Tag sind dann wieder die Lymphocyten befundet.
2. In den Präparaten sind zwar vakuolisierte Immunoblasten zu erkennen, sie befinden sich aber in so geringer Anzahl, daß hier nur die kleinen und großen Immunoblasten differenziert wurden, jeweils die vakuolisierten Formen eingeschlossen.
3. Die Retikulumzellen sind ab 5. Tag nicht mehr zu differenzieren, sie wurden auch deswegen nicht ausgewertet.
4. In den Tabellen wurden folgende Zeichen angewandt:
Ø = keine Aktivität
- = Zellart nicht gefunden oder nicht auswertbar.

Es wurden von 5 Mononukleose-Patienten Phytohämagglutininkulturen angefertigt. Bei 3 von diesen Patienten wurde der Krankheitsverlauf verfolgt, indem Phytohämagglutininkulturen im akuten Stadium und 2-3 Wochen nach Behandlungsbeginn angesetzt wurden. Parallel zu dieser Versuchsreihe wurden von 4 Patienten, die nicht an Mononukleose erkrankt waren - wir nennen sie "Normalfälle" - Phytohämagglutininkulturen angefertigt.

Die Kulturen wuchsen unterschiedlich lange, meistens bis zum 5. Tag. Je eine Kultur von Normal- und Mononukleose-Patienten wuchsen bis zum 7. Tag, je eine Kultur von beiden Patientengruppen nur bis zum 3. Tag.

Spezialfärbungen wurden an jedem Kulturtag zusätzlich zu der Pappenheim-Färbung in beiden Versuchsreihen angefertigt, mit Ausnahme von 2 Mononukleoseversuchen, bei denen nur Pappenheim-Färbungen durchgeführt wurden. Zusätzlich wurden bei 3 "Normalfällen" absolute Zellzählungen durchgeführt und bei drei Versuchsreihen eines Mononukleose-Patienten.

Eine Versuchsreihe dieses Patienten wurde mit 1 ml Nährlösungs-Zusatz angefertigt.

Zusammensetzung der Nährlösung:

Glucose	800 mg%
Ascorbinsäure	3,3 mg%
TPP	0,1 mg%
ATP	100 mg%
Folsäure	1,5 mg%

Insgesamt wurden 121 Ausstriche ausgewertet. Es wurden in jedem Präparat nach Möglichkeit 300 Zellen differenziert und die Färbeintensitätsindices bestimmt. Am Ende der Versuche hatten wir 35.755 Zellen ausgewertet, da oft weniger als 300 differenzierbare Zellen aufzufinden waren.

Ausgezählt wurden vorwiegend die aufgelockerten Randpartien der Präparate, indem diese Gebiete mäanderförmig durch das Gesichtsfeld geschoben wurden. Jedes Gesichtsfeld, das zu differenzierende Zellen bot, wurde ganz differenziert.

ER G E B N I S S E

Das Original-Blutbild der Patienten, die nicht an Mononukleose erkrankt waren, wird von den neutrophilen Segmentkernigen und den Lymphocyten beherrscht. Das Verhältniß war etwa 45% : 35%, der Rest entfiel auf Lymphoidzellen (7% - 10%), eosinophile Segmentkernige (4% - 8%), Virocyten (1% - 3%), Monocyten (1% - 3%), basophile Segmentkernige und Promonocyten je 0-1%.

Die prozentuale Verteilung der Kulturen von den "Normalfällen" ist in den Tabellen I-IV aufgezeichnet und geht aus den Abbildungen I-IV hervor (Seite 18-22).

"Normalfälle":

1. Patient SY. Edith, 58 Jahre

Klinische Diagnose: Verdacht auf Lymphocytose

Blutbild vom 12.11.71:

Leukocyten:	6500/ μ l	Promonocyten:	1 %
Segmentkernige:	43 %	Lymphoidzellen:	10 %
Basophile:	1 %	Lymphocyten:	35 %
Eosinophile:	6 %	Virocyten:	3 %
Monocyten:	1 %	Thrombocyten:	24.000/ μ l

2. Patient PF. Gisella, 33 Jahre

Klinische Diagnose: Leukopenie

Blutbild vom 7.2.72:

Hb:	12,8 g%	Segmentkernige:	39 %
Erythrocyten:	3,86 Mill/ μ l	Eosinophile:	8 %
Hb _E :	33 pg	Lymphoidzellen:	9 %
Thrombocyten:	110.000/ μ l	Lymphocyten:	42 %
Leukocyten:	600/ μ l	Virocyten:	2 %

3. Patient ST. Werner, 53 Jahre

Klinische Diagnose: Passagäre Thrombocytopenie

Blutbild vom 29.10.71:

Hb:	14,6 g%	Leukocyten:	6000/ μ l
Erythrocyten:	4,6 Mill/ μ l	Segmentkernige:	39 %
Retikulumzellen:	9 %	Eosinophile:	8 %
Hb _E :	31,8 pg	Lymphoidzellen:	9 %
Hämatokrit:	41,3 %	Lymphocyten:	42 %
Thrombocyten:	168.000/ μ l	Virocyten:	2 %

4. Patient KA. Andreas, 25 Jahre

Klinisch gesunde Person

Blutbild vom 27.2.72:

Leukocyten:	6775/ μ l	Lymphoidzellen:	7 %
Segmentkernige:	53 %	Lymphocyten:	34 %
Eosinophile:	4 %	Virocyten:	1 %
Monocyten:	1 %		

In den stimulierten Kulturen aller 4 Patienten (Tab. I-VI; Abb. I-IV, Seite 18-22) gingen die segmentkernigen Granulocyten, Mono- und Promonocyten bis zum 3. Tag zugrunde. Wir fanden hier auch keine Virocyten und keine Lymphoidzellen mehr. 10% - 15% der Lymphocyten konnten sich in der Kultur unverändert halten, während andere in Form der stimulierten Lymphocyten in Erscheinung traten, deren Prozentsatz unterschiedlich war (10% - 15%), bei der Kultur von Patient KA. sogar 35 % (Tab. u. Abb. IV, Seite 22). Fast die Hälfte der am 3. Tag der Kulturen befindlichen Zellen, 38% - 46%, bestand aus kleinen Immunoblasten, 8% - 17% aus großen Immunoblasten. Immunoblasten beider Größenordnungen waren bis zu 9% vakuolisiert. Schließlich entstanden noch in den Kulturen Retikulumzellen, deren Prozentsatz um 10% lag.

Am 5. Tag der Kulturen war der Prozentsatz der kleinen Immunoblasten stark angewachsen (47% - 52%), während die großen Immunoblasten etwa 1/5 ausmachten (19% - 23%). Die vakuolisierten Formen blieben weiterhin unter 10%. Bei den Retikulumzellen fand sich ein Abfall der am 3. Tag gefundenen Werte auf die Hälfte (4% - 6%), nur in der Kultur von Patient ST. (Tab. u. Abb. III, Seite 21) stiegen sie auf 11% an. Die Lymphocyten behielten ihren Prozentsatz vom 3. Tag (4% - 7%), während die stimulierten Lymphocyten völlig verschwunden waren.

Am 7. Tag der Kultur (Tab. u. Abb. III, Seite 21) war auffallend ein Anstieg der Lymphocytenzahl auf etwa 30% des Ausgangswertes und der hohe Prozentsatz der kleinen Immunoblasten (62%), während die Zahl der großen Immunoblasten im Vergleich zu den am 5. Tag gefundenen Werten auf die Hälfte gefallen war (12%). Die vakuolisierten Formen zeigten keine zahlenmäßige Veränderung, die Zahl der Retikulumzellen entsprach dem Ausgangswert des 3. Tages.

Alle Mitosen, die in den Präparaten zu finden waren, kamen am 3. Tag der Kulturen vor. Den Mitose-Index haben wir erhalten, indem die Zahl der Mitosen durch die Zahl sämtlicher Immunoblasten dividiert wurde:

$$\text{Mitose-Index} = \frac{\text{Zahl der Mitosen}}{\text{Sämtliche Blasten}}$$

Patient	Mitosen	Art der Mitosen
SY.E.	2/207 = 9,6‰	2 frühe Metaphasen
PF.G.	1/68 = 14,8‰	1 frühe Metaphase
ST.W.	0/219 = 0	---
KA.A.	2/156 = 12,7‰	2 späte Metaphasen

Wollen wir einen mittleren Mitose-Index erhalten, so gibt es zwei verschiedene Werte. Bilden wir ihn durch die Mitosen/Blasten-Werte, so bekommen wir $5/650 = 7,7‰$, bilden wir ihn durch die Promille-Werte, so erhalten wir einen mittleren Mitose-Index von 9,3‰.

Zellarten	%	PAS _I	E _I	SP _I	POX _I
Segmentkernige	43 - -	285 - -	16 -	10 -	25
Bas. Segmentk.	1 - -	- - -	- -	- -	-
Eos. Segmentk.	6 - -	200 - -	- -	- -	200
Monocyten	1 - -	⊖ - -	- -	- -	-
Promonocyten	1 - -	- - -	- -	- -	-
Lymphoidzellen	10 - -	11 - -	2 -	4 -	1
Lymphocyten	35 5 7	⊖ - 95	4 -	7 -	⊖
Virocyten	3 - -	- - -	- -	- -	-
Stimulierte Lymphocyten	- 14 -	- 83 -	- ⊖ -	- ⊖ -	-
Kleine Immunoblasten	- 38 54	- 92 102	- ⊖ -	- ⊖ -	-
Kleine Immuno. vakuolisiert	- 5 8	- - -	- -	- -	-
Große Immunoblasten	- 17 21	- 60 73	- ⊖ -	- ⊖ -	-
Große Immuno. vakuolisiert	- 9 6	- - -	- -	- -	-
Retikulumzellen	- 12 4	- 10 -	- ⊖ -	- ⊖ -	-
Mitosen	- 26 I -	- - -	- -	- -	-
2-kernige Zellen	34 24 I	- - -	- -	- -	-
Kulturtag	0 3 5	0 3 5	0 3 0	0 3 0	0
Zellzahlen	300 300 200	300 300 200	300 300 300	300 300 300	300

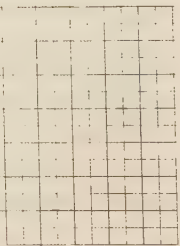
Tab. I

Tab. I: SY. EDITH 11.11.71. Prozentuale Verteilung und Indices der Färbemethoden für alle Zellarten an den verschiedenen Kulturtagen.

PAS_I = PAS-Indices; E_I = ~~α~~-NA-Esterase-Indices;

SP_I = saure Phosphatase-Indices; POX_I = Peroxydase-Indices.

Weiterhin sind die gefundenen Mitosen und die zweikernigen Zellen sowie die Zahl der in den Präparaten differenzierten Zellen vermerkt.



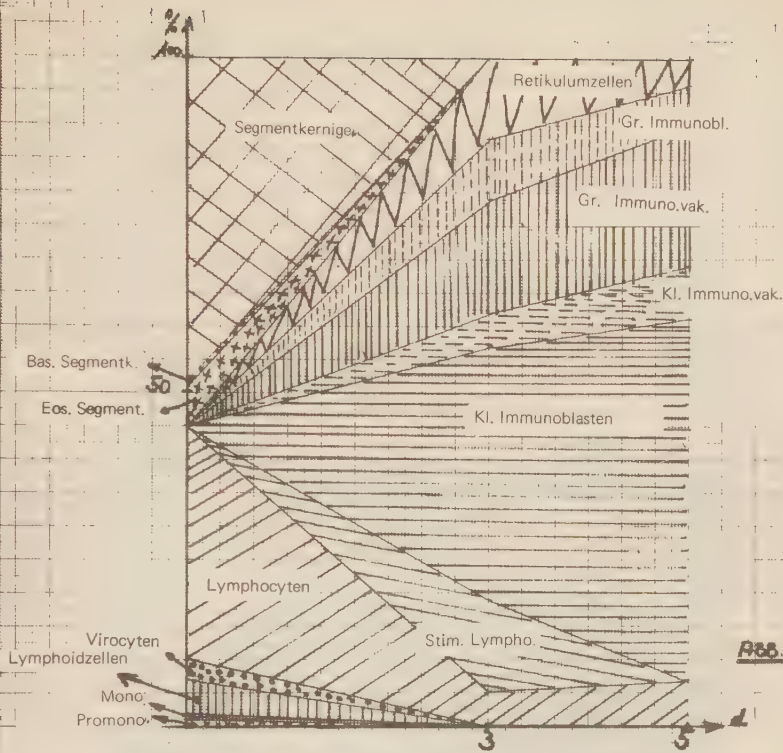


Abb. I

Abb. I: SY.EDITH 11.11.71. Die Prozentzahlen der verschiedenen Zellen sind auf der Ordinate additiv aufgetragen. Ein Zuwachs oder Verminderung, Absterben oder Entstehung einer Zellart ist an der Größe der zu dieser Zellart zugehörigen Fläche in dem Zeitraum zwischen den Kulturtagen (Abszisse) abzulesen.

Zellarten	%	PAS _I	E _I	SP _I	POX _I
Segmentkernige	39	30	8	21	300
Bas. Segmentk.	—	—	—	—	—
Eos. Segmentk.	8	—	200	—	20
Monocyten	—	—	120	—	—
Promonocyten	—	—	—	—	—
Lymphoidzellen	9	0	21	8	7
Lymphocyten	42	0	5	12	0
Virocyten	2	—	—	—	0
Stimulierte Lymphocyten	—	10	50	0	—
Kleine Immunoblasten	—	40	88	0	—
Kleine Immuno. vakuolisiert	—	5	—	—	—
Große Immunoblasten	—	16	35	0	—
Große Immuno. vakuolisiert	—	7	—	—	—
Retikulumzellen	—	15	25	0	—
Mitosen	—	16	—	—	—
2-kernige Zellen	5/4	—	—	—	—
Kulturtage	0	3	0	3	0
Zellzahlen	200	100	200	100	200

TAB. I

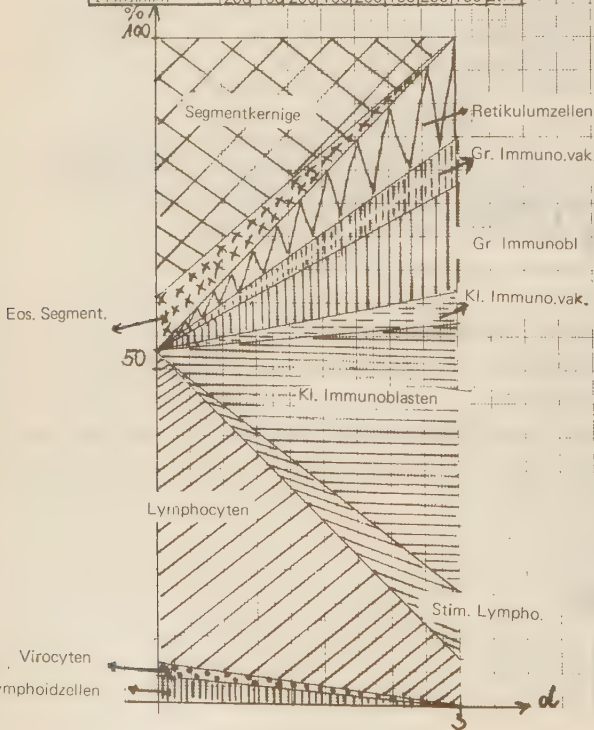


ABB. II

Tab. II und Abb. II. PF. GISELLA 30.11.71
Zeichenerklärung siehe Seite Bund 19

Zellarten	%				PAS _I	E _I	SP _I	POX _I
Segmentkernige	49	-	-	-	30	12	4	25
Bas. Segmentk.	-	-	-	-	-	-	-	-
Eos. Segmentk.	4	-	-	-	200	-	-	200
Monocyten	3	-	-	-	-	150	-	-
Promonocyten	-	-	-	-	-	-	-	-
Lymphoidzellen	9	-	-	-	33	15	16	0
Lymphocyten	32	5	4	13	0	2	6	0
Virocyten	3	-	-	-	0	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	-	15	-	-	67	0	0	0
Kleine Immunoblasten	-	46	47	62	122	0	0	0
Kleine Immuno. vakuoliert	-	8	7	5	-	-	-	-
Große Immunoblasten	-	13	23	12	105	0	0	0
Große Immuno. vakuoliert	-	7	8	2	-	-	-	-
Retikulumzellen	-	6	11	6	13	0	0	0
Mitosen	-	-	-	-	-	-	-	-
2-kernige Zellen	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulturtage	0	3	5	7	0	3	0	3
Zeltzahlen	300	300	300	100	300	300	300	300

Tab. I

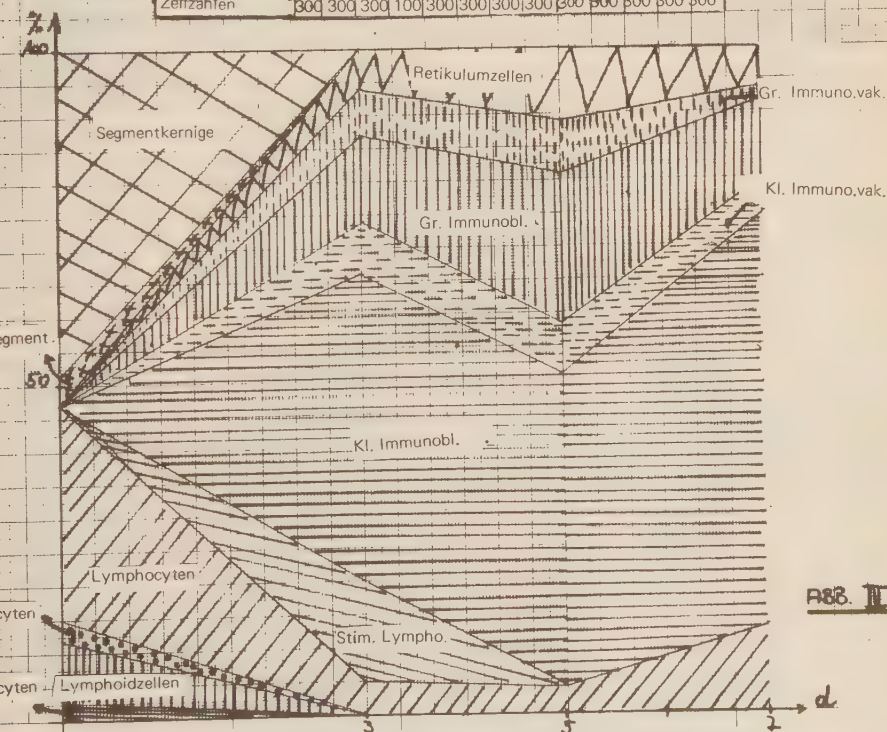


Abb. II

Tab. III und Abb. III: ST. WERNER 29.10.71
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarter	PAS _I			E _I			SP _I			POX _I		
Segmentkernige	53	---	260	---	7	---	9	---	290	---	---	---
Bas. Segmentk.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Eos. Segmentk.	4	---	200	---	---	---	---	---	---	200	---	---
Monocyten	1	---	0	---	100	---	---	---	---	---	---	---
Promonocyten	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Lymphoidzelle	7	---	5	---	40	---	4	---	12	---	---	---
Lymphocyten	34	3	4	0	100	4	0	8	0	0	0	0
Virocyten	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Stimulierte Lymphocyten	---	35	---	---	87	---	0	---	0	---	0	---
Kleine Immunoblaste	---	40	52	---	89	97	---	0	0	---	0	0
Kleine Immung. vakuolisiert	---	2	11	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Große Immunoblaste	---	8	19	---	35	74	---	0	0	---	0	0
Große Immung. vakuolisiert	---	2	8	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Retikulumzellen	---	10	6	---	17	---	---	0	---	0	---	---
Mitosen	---	4	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2-kernige Zellen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Kulturtage	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5
Zellzahlen	300	200	200	300	200	200	300	200	200	300	200	200

TAB. IV

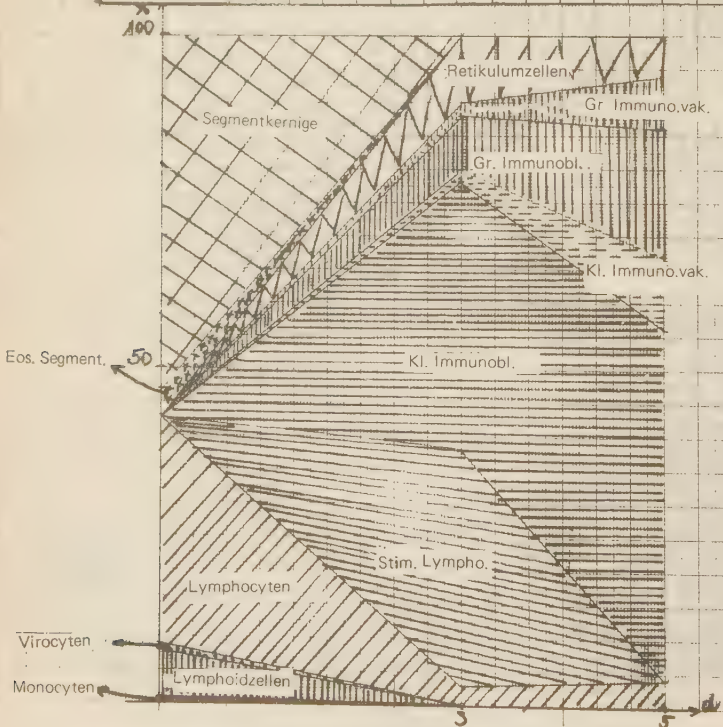


Abb. IV

Tab. IV und Abb. IV: KA, ANDREAS 21.2.72
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Absolute Zellzählungen wurden bei 3 Kulturen der "Normalfälle" durchgeführt (von Patient KA. keine). Da die Kultur von Patient PF. nur bis zum 3. Tag gewachsen war, wurde keine Abbildung angefertigt. In den Abbildungen V und VI (Seite 24, 25) sind die prozentualen Zellverteilungen aufgezeichnet, indem die gefundenen absoluten Zellzahlen der jeweiligen Kulturtage 100% gleichgesetzt sind. Dabei ist ersichtlich, daß bis zum 3. Kulturtag die Zellzahl stark abnimmt, bis auf weniger als ein Zehntel der Zellzahl des Originalblutbildes (Patient ST.; Abb. VI, Seite 25), bei Patient SY. (Abb. V, Seite 24) jedoch nur auf 40%. Das ist leicht erklärlich durch das Verschwinden der segmentkernigen Granulocyten, Monocyten, Lymphoidzellen und Virocyten.

Am 5. Tag ist ein Anstieg der Zellzahl zu vermerken. Dies muß mit den an den 3. Kulturtagen gefundenen Mitosen in Zusammenhang gebracht werden. Bei Patient SY. (Abb. V, Seite 24), mit dem Mitose-Index von 9,6%, ist ein Anstieg der Zellzahl um 20% zu finden, bei Patient ST. (Abb. VI, Seite 25) um 16,6%.

Am 7. Tag beobachteten wir bei beiden Patienten einen weiteren Anstieg der Zellzahlen. Diese Werte waren 50% bzw. 75% höher als die am 5. Tag gefundenen Zellzahlen und 110% bzw. 75% höher als am 3. Tag.

Abb.V: SY.EDITH 11.11.71. Die prozentualen Zellverteilungen sind auf der Ordinate additiv aufgetragen, indem die gefundenen absoluten Zellzahlen der jeweiligen Kulturtage 100% gleichgesetzt sind. Ein Zuwachs oder Verminderung, Absterben oder Entstehung einer Zellart ist an der Größe der zu dieser Zellart zugehörigen Fläche in dem Zeitraum zwischen den Kulturtagen (Abszisse) abzulesen. Die absoluten Zellzahlen sind an jedem Kulturtage bei 100% vermerkt.

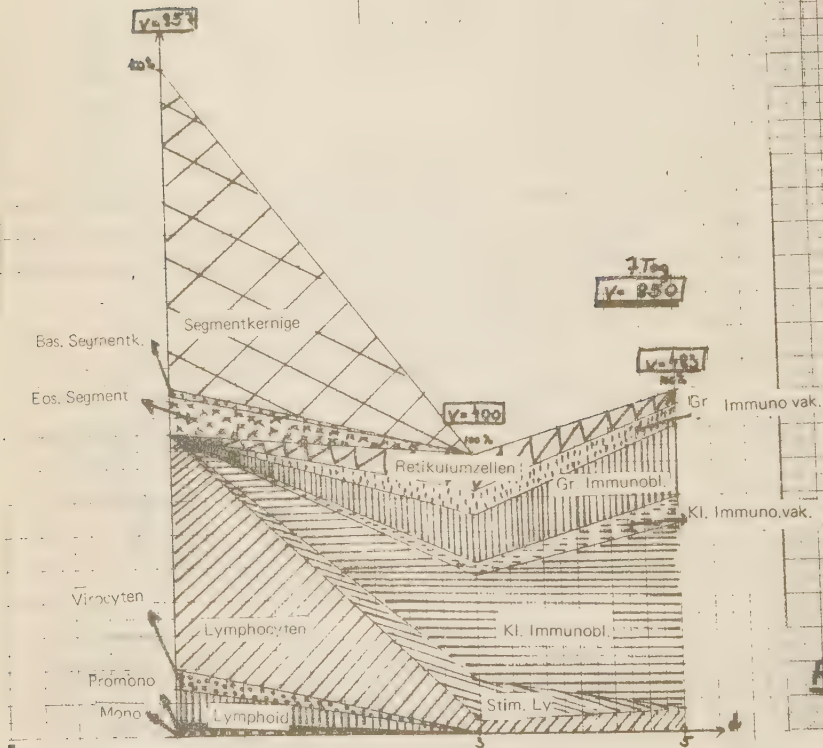
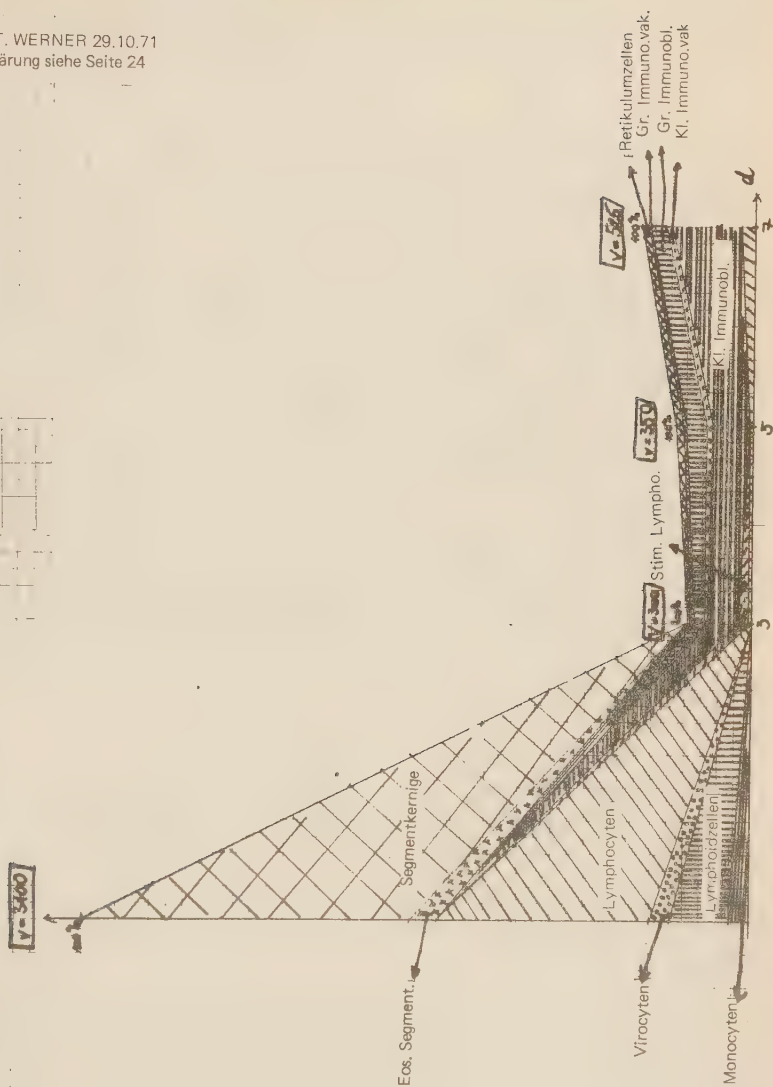


Abb. VI: ST. WERNER 29.10.71
Zeichenerklärung siehe Seite 24



Bei der Auswertung der cytochemischen Spezialfärbungen der Kontrollversuche erhielten wir folgende Ergebnisse:

Tab. I-IV (Seite 18, 20, 21, 22) für die einzelnen Patienten

Tab. V-VIII (Seite 28, 29) für die Zusammenfassung der "Normalfälle" und

Tab. XXII (Seite 50), für die mittleren Indices

Die neutrophilen und eosinophilen Segmentkernigen zeigen in den Originalausstrichen die höchsten PAS- und POX-Indices. Die Werte sind bei allen Fällen weitgehend übereinstimmend. Für die neutrophilen Segmentkernigen wurde ein mittlerer PAS-Index von 286, ein mittlerer POX-Index von 270 errechnet. Bei den eosinophilen Segmentkernigen beobachteten wir sowohl bei der PAS- wie auch bei POX-Färbungen einen Index, der der Stufe 2 entspricht, so daß sich für beide Spezialfärbungen ein mittlerer Index von 200 ergab. Lediglich bei einem Fall war in dem Originalausstrich auch bei α -Naphthylacetat-Esterase ein Index von 200 zu errechnen, während bei den anderen Fällen sowie bei der sauren Phosphatase-Färbung keine eosinophilen Segmentkernigen auftauchen. Die neutrophilen Segmentkernigen waren bei diesen beiden Spezialfärbungen von ganz schwacher Aktivität (E = 7 - 16, SP = 4 - 21), so daß wir für beide Spezialfärbungen einen mittleren Index von 11 errechneten.

Monocyten fanden wir bei der PAS-Färbung ohne Aktivität, während bei der POX- und SP-Färbung keine Monocyten zu differenzieren waren. Allein bei der E-Färbung zeigten die Monocyten Aktivität (100-150); hier wurde der mittlere Index 123.

Die Lymphoidzellen zeigten bei allen Färbeverfahren kaum Aktivitäten. Die mittleren Indices waren: PAS = 12, E = 19, SP = 8, POX = 5.

Virocyten waren bei der PAS- und POX-Reaktion ohne Aktivität, bei der E- und SP-Färbung waren sie nicht zu differenzieren.

Lymphocyten zeigten im Originalblutbild nur bei der E- und SP-Färbung minimale Aktivitäten (mittlere Indices 4 und 8), bei der

PAS und POX-Färbung hatten sie keine Aktivität. Am 5. Tag der Kultur beobachteten wir nur bei der PAS-Färbung Aktivitäten an Lymphocyten; diese Aktivität bewegte sich um die Stufe 1 (mittlerer Index = 98).

Die stimulierten Lymphocyten traten erst am 3. Tag der Kultur auf und waren bei der PAS-Färbung aktiv. Es ergibt sich ein mittlerer Index von 72. Die anderen Färbeverfahren zeigten keine Aktivität.

Die Immunoblasten fanden sich ebenso nur bei der PAS-Färbung aktiv, und zwar am 3. und 5. Tag fast ohne Unterschiede um die Aktivitätsstufe 1 bei den kleinen (mittlerer Index: 3. Tag = 98, 5. Tag = 100), bei den großen etwas darunter (mittlerer Index: 3. Tag = 84, 5. Tag = 74). Bei allen anderen Spezialfärbungen waren die Immunoblasten beider Größenordnungen ohne Aktivität.

Für die Retikulumzellen errechneten wir einen sehr niedrigen mittleren Index von 16 am 3. Tag der Kultur auch nur bei der PAS-Färbung, während die anderen Färbungen keine Aktivitäten bei dieser Zellart gezeigt haben.

Tab. V-VIII: Indices aller Färbemethoden bei den Kulturen der Kontrollfälle.

Zellarten	SY.E.	PF.G.	ST.W.	K.A.A.
Segmentkernige	285 --	300 --	200 --	200 --
Bas. Segmentk.	-- --	-- --	-- --	-- --
Eos. Segmentk.	200 --	-- --	200 --	200 --
Monocyten	⊖ --	-- --	-- --	⊖ --
Promonocyten	-- --	-- --	-- --	-- --
Lymphoidzellen	11 --	⊖ --	33 --	5 --
Lymphocyten	⊖ 95	⊖ --	⊖ --	⊖ 100
Virocyten	-- --	-- --	⊖ --	-- --
Stimulierte Lymphocyten	-- 23 --	-- 50 --	-- 62 --	-- 82 --
Kleine Immunoblasten	-- 92 402	-- 88 --	-- 102 --	-- 89 92
Kleine Immuno. vakuolisiert	-- --	-- --	-- --	-- --
Große Immunoblasten	-- 60 23	-- 95 --	-- 105 --	-- 25 74
Große Immuno. vakuolisiert	-- --	-- --	-- --	-- --
Retikulumzellen	-- 10 --	-- 25 --	-- 13 --	-- 14 --
Kulturtag	0 3 5	0 3	0 3	0 3 5

Tab. V: PAS-Indices

Zellarten	SY.E.	PF.G.	ST.W.	K.A.A.
Segmentkernige	16 --	8 --	12 --	7 --
Bas. Segmentk.	-- --	-- --	-- --	-- --
Eos. Segmentk.	-- --	200 --	-- --	-- --
Monocyten	-- --	100 --	150 --	100 --
Promonocyten	-- --	-- --	-- --	-- --
Lymphoidzellen	2 --	21 --	15 --	40 --
Lymphocyten	4 --	5 --	2 --	4 --
Virocyten	-- --	-- --	-- --	-- --
Stimulierte Lymphocyten	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖
Kleine Immunoblasten	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖
Kleine Immuno. vakuolisiert	-- --	-- --	-- --	-- --
Große Immunoblasten	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖
Große Immuno. vakuolisiert	-- --	-- --	-- --	-- --
Retikulumzellen	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖	-- ⊖
Kulturtag	0 3	0 3	0 3	0 3 5

Tab. VI: ~~NA~~ - Esterase-Indices

Zellarten	SY.E.	PF.G.	ST.W.	KA.A.
Segmentkernige	10 -	21 -	4 -	9 -
Bas. Segmentk.	-	-	-	-
Eos. Segmentk.	-	-	-	-
Monocyten	-	-	-	-
Promonocyten	-	-	-	-
Lymphoidzellen	4 -	8 -	16 -	4 -
Lymphocyten	7 -	12 -	6 -	8 -
Virocyten	-	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	-	-	-	-
Kleine Immunoblasten	-	-	-	-
Kleine Immuno. vakuolisiert	-	-	-	-
Große Immunoblasten	-	-	-	-
Große Immuno. vakuolisiert	-	-	-	-
Retikulumzellen	-	-	-	-
Kulturtage	0 3	0 3	0 3	0 3 5

Tab. VII: Saure Phosphatase-Indices

Zellarten	SY. PF.	ST.W.	KA.A.
Segmentkernige	25 300 25	-	20 -
Bas. Segmentk.	-	-	-
Eos. Segmentk.	200 200 200	-	200 -
Monocyten	-	-	-
Promonocyten	-	-	-
Lymphoidzellen	1 2	-	12 -
Lymphocyten	-	-	-
Virocyten	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	-	-	-
Kleine Immunoblasten	-	-	-
Kleine Immuno. vakuolisiert	-	-	-
Große Immunoblasten	-	-	-
Große Immuno. vakuolisiert	-	-	-
Retikulumzellen	-	-	-
Kulturtage	0 0	0 3 5	0 3 5

Tab. VIII: Peroxydase-Indices

Mononukleosefälle:

5. Patient PO. Brigitte, 14 Jahre

Klinische Diagnose: Morbus Pfeiffer

Blutbild vom 17.12.71:

Blutbild vom 5.1.72:

1. Versuch

2. Versuch

Hb: 12,4 g%

Leukocyten: 7100/ μ l

Erythrocyten: 4,4 Mill./ μ l

Segmentkernige: 27 %

Hb_E: 28,2 pg

Basophile: 1 %

Thrombocyten: 230.000/ μ l

Eosinophile: 2 %

Leukocyten: 15.100/ μ l

Monocyten: 3 %

Segmentkernige: 36 %

Lymphoidzellen: 22 %

Eosinophile: 1 %

Lymphocyten: 42 %

Monocyten: 2 %

Virocyten: 3 %

Promonocyten: 1 %

Lymphoidzellen: 41 %

Lymphocyten: 18 %

Virocyten: 1 %

6. Patient GI. Bernd, 16 Jahre

Klinische Diagnose: Morbus Pfeiffer

Blutbild vom 24.11.71

Blutbild vom 14.12.71:

1. Versuch

2. Versuch

Hb: 13,2 g%

Hb: 13,9 g%

Erythrocyten: 4,45 Mill./ μ l

Erythrocyten: 4,36 Mill./ μ l

Hb_E: 29,8 pg

Hb_E: 32 pg

Thrombocyten: 194.000/ μ l

Leukocyten: 2.800/ μ l

Leukocyten: 13.000/ μ l

Segmentkernige: 42 %

Segmentkernige: 10 %

Basophile: 0,5 %

Monocyten: 4 %

Eosinophile: 0,5 %

Lymphoidzellen: 36 %

Monocyten: 0,5 %

Lymphocyten: 47 %

Promonocyten: 0,5 %

Virocyten: 3 %

Lymphoidzellen: 11 %

Lymphocyten: 40 %

Virocyten: 5 %

7. Patient SCHR. Frank, 12 Jahre

Klinische Diagnose: Morbus Pfeiffer

Blutbild vom 10.8.71:

Hb:	12,0 g%	Leukocyten:	11.400/ μ l
Erythrocyten:	4,08 Mill./ μ l	Segmentkernige:	41 %
Hb _E :	29,8 pg	Monocyten:	8 %
Thrombocyten:	192.000/ μ l	Lymphoidzellen:	31 %
		Lymphocyten:	20 %

8. Patient MÖ. Irene, 16 Jahre

Klinische Diagnose: Morbus Pfeiffer

Blutbild vom 27.1.71:

Blutbild vom 1.2.71:

1. Versuch

2. Versuch

Hb:	13,8 g%	Hb:	13,4 g%
Erythrocyten:	4,7 Mill./ μ l	Erythrocyten:	4,42 Mill./ μ l
Hb _E :	29 pg	Hb _E :	30 pg
Anisocytose:	(+)	Anisocytose:	(+)
Poikilocytose:	(+)	Poikilocytose:	(+)
Leukocyten:	6.600/ μ l	Leukocyten:	11.100/ μ l
Segmentkernige:	8 %	Segmentkernige:	22 %
Monocyten:	4 %	Eosinophile:	2 %
Promonocyten:	2 %	Monocyten:	4 %
Lymphoidzellen:	63 %	Lymphoidzellen:	41 %
Lymphocyten:	19 %	Lymphocyten:	25 %
Virocyten:	4 %	Virocyten:	6 %

9. Patient PHI. Detlef, 16 Jahre

Klinische Diagnose: Morbus Pfeiffer

Blutbild vom 20.9.69:

Hb:	13,7 g%
Erythrocyten:	4,64 Mill./ μ l
Hb _E :	29,6 pg
Leukocyten:	6.100/ μ l
Segmentkernige:	9 %
Eosinophile:	1 %
Monocyten:	1 %
Promonocyten:	1 %
Lymphoidzellen:	52 %
Lymphocyten:	30 %
Virocyten:	6 %

Die Originalausstriche der Mononukleose-Patienten zeigten je nach Aktivität der Erkrankung eine unterschiedliche prozentuale Verteilung der Zellarten. Typisch war bei hochakutem Stadium die hohe Anzahl der Lymphoidzellen bis zu 63% (Tab. XV; Abb. XIII, Seite 42) und der geringe Prozentsatz der Segmentkernigen, die nur bis zu 10% vorkamen. Bei anderen Fällen fanden wir Segmentkernige häufiger (35% bzw. 41%: Tab. IX; Abb. VII, Seite 36 und Tab. XIV; Abb. XII, Seite 41), in diesen Blutbildern waren dann weniger Lymphoidzellen zu sehen (41% bzw. 31%).

Die Monocyten kamen in den Originalausstrichen selten (bis zu 8%) vor, ebenso die Promonocyten, deren typische Formen wir nur bis zu 2% beobachteten. Basophile und eosinophile Segmentkernige wurden sehr selten gesehen (1-2%). Die Lymphocyten zeigten einen schwankenden Prozentsatz mit Werten zwischen 18% und 47%. Neben den Lymphocyten fanden wir bis zu 6% Virocyten.

Am 3. Tag der Kulturen (Tab. IX-XVII; Abb. VII-XV, Seite 36-44) fanden wir in den Kontrollfällen keine segmentkernigen Granulocyten, Mono- und Promonocyten, keine Virocyten, aber auch keine Lymphoidzellen mehr.

Lymphocyten beobachteten wir zwischen 0 und 7% an den 3. Kulturtagen. Der Prozentsatz der stimulierten Lymphocyten bewegte sich zwischen 7% und 19%. Die durch das PHA entstandenen Immunoblasten beherrschten das Blutbild. Die kleinen Immunoblasten überwogen; bis zu 70 % waren sie die meistgefundene Zellart. Nur bei Patient GI. (Tab. XI; Abb. IX, Seite 38) waren lediglich 17% zu differenzieren. Die großen Immunoblasten sowie die vakuolisierten Formen beider Größenordnungen fanden wir sehr variabel verteilt. Große Immunoblasten zwischen 2% und 18%, kleine vakuolisierte Immunoblasten zwischen 3% und 31%, und große vakuolisierte Immunoblasten zwischen 1% und 19%.

Am 3. Tag waren bis zu 8% Retikulumzellen entstanden.

Am 5. Tag der Kulturen überwogen wieder die kleinen Immunoblasten und machten 42% - 62% der Zellen aus. Die anderen Formen der Immunoblasten zeigten folgende Werte: große Immunoblasten 3% - 18%, kleine Immunoblasten vakuolisiert 10% - 18%, große Immunoblasten vakuolisiert 5% - 25%.

Lymphocyten beobachteten wir am 5. Kulturtag bei Patient GI (Tab. XI; Abb. IX, Seite 38) 5%, bei Patient MÖ. (Tab. XV;

Abb. XIII, Seite 42) 6%, in der Kultur von Patient PO. (Tab. IX; Abb. VII, Seite 36) keine, und bei einem Patient (PHI. (Tab. XVII; Abb. XV, Seite 44)) vermerkten wir einen Anstieg der Lymphocytenzahl auf 11%, hier bei Ausstrichen am 4. und 6. Kulturtag.

Bei den Kulturen von Patienten, bei denen der Krankheitsverlauf verfolgt wurde, kamen wir zu folgenden Ergebnissen (Tab. IX-XII, XV, XVI; Abb. VII-X, XIII, XIV, Seite 36-39, 42, 43):

Das Auffallendste nach 2-3 Wochen Krankheitsverlauf war im Ausgangspräparat die starke Reduktion der Zahl der Lymphoidzellen: von 41% auf 22% (PO. (Tab. IX und X; Abb. VII und VIII, Seite 36 und 37)); von 47% auf 11% (GI. (Tab. XI und XII; Abb. IX und X, Seite 38 und 39)) und bei Patient MÖ. (Tab. XV und XVI; Abb. XIII und XIV, Seite 42 und 43) nach 1 Woche von 63 % auf 41%. Die Zahl der neutrophilen Segmentkernigen vermehrte sich von 10% auf 42% (GI. (Tab. XII; Abb. X, Seite 39)), von 8% auf 22% (MÖ. (Tab. XVI; Abb. XIV, Seite 43)), bei dem Originalblutbild von Patient PO. (Tab. X; Abb. VIII, Seite 37) sank jedoch die Zahl auf 27%. Die Verteilung der Lymphocyten beobachteten wir bei den drei Fällen verschieden: einmal vermerkten wir eine Erhöhung von 18% auf 42% (PO. (Tab. IX und X; Abb. VII und VIII, Seite 36 und 37)), einmal blieb die Lymphocytenzahl annähernd (47% und 40% bei GI. (Tab. XI und XII; Abb. IX und X, Seite 38 und 39)) und in einem Fall (MÖ. (Tab. XV und XVI; Abb. XIII und XIV, Seite 42 und 43)) erhöhte sich von 19% auf 25% die Zahl der Lymphocyten im Vergleich zu den Originalblutbildern, die von den Patienten in den akuten Stadien gewonnen wurden.

Am 3. und 5. Kulturtag zeigte die Verteilung der Lymphocyten, der stimulierten Lymphocyten, der verschiedenen Formen der Immunoblasten und der Retikulumzellen keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu den Kulturen von denselben Patienten am Beginn der Krankheit.

Ein Vergleich zwischen zwei Versuchsreihen, bei denen eine Phytohämagglutinkultur von einem anbehandelten Patienten mit der

Kultur mit Vitamin-Glucose-Zusatz verglichen wurde (Patient GI. (Tab. XII und XIII; Abb. X und XI, Seite 39 und 40)), brachte folgende Ergebnisse:

In der Kultur mit Vitamin-Glucose-Zusatz waren am 3. Tag nur noch die Hälfte an stimulierten Lymphocyten (15%) und 30% weniger kleine Immunoblasten (46% auf 32%) vorhanden. Demgegenüber erhöhte sich der Prozentsatz der vakuolisierten kleinen Immunoblasten von 10% auf 31%, der großen vakuolisierten Immunoblasten von 1% auf 9%. Dies wird noch deutlicher am 5. Kulturtag, an dem fast nur die vakuolisierten Formen beobachtet wurden (kleine 37%, große 35%).

Sämtliche Mitosen, die in den Kulturen der Mononukleosefälle zu beobachten waren, kamen nur an den 3. Kulturtagen vor. Den Mitose-Index bildeten wir in der gleichen Weise wie bei den "Normalfällen".

Patient	Mitosen	Art der Mitosen
PO. 17.12.71	1/118 = 8,9%	1 frühe Metaphase
PO. 5. 1.72	0/132 = 0	----
GI. 25.11.71	2/222 = 9,0%	1 frühe Metaphase, 1 Anaphase
GI. 16.12.71	1/207 = 5,0%	1 späte Metaphase
GI. 15.12.71		
Nährlösung-Zusatz	2/221 = 9,0%	2 späte Metaphasen
SCHR. 11.8.71	2/106 = 18,8%	2 frühe Metaphasen
MÖ. 27. 1.71	0/228 = 0	----
MÖ. 5. 2.71	0/212 = 0	----
PHI. 30. 9.69	0/164 = 0	----

Wir erhielten zwei verschiedene mittlere Mitose-Indices, wie wir bei der Ausrechnung für die mittleren Mitose-Indices der "Normalfälle" durchgeführt haben. Die Werte waren:

$$8/1609 = 5,0\% \text{ oder } 5,6\%$$

Absolute Zellzählungen wurden bei den 3 Kulturen von Patient GI. durchgeführt (Abb. XVI, Seite 45).

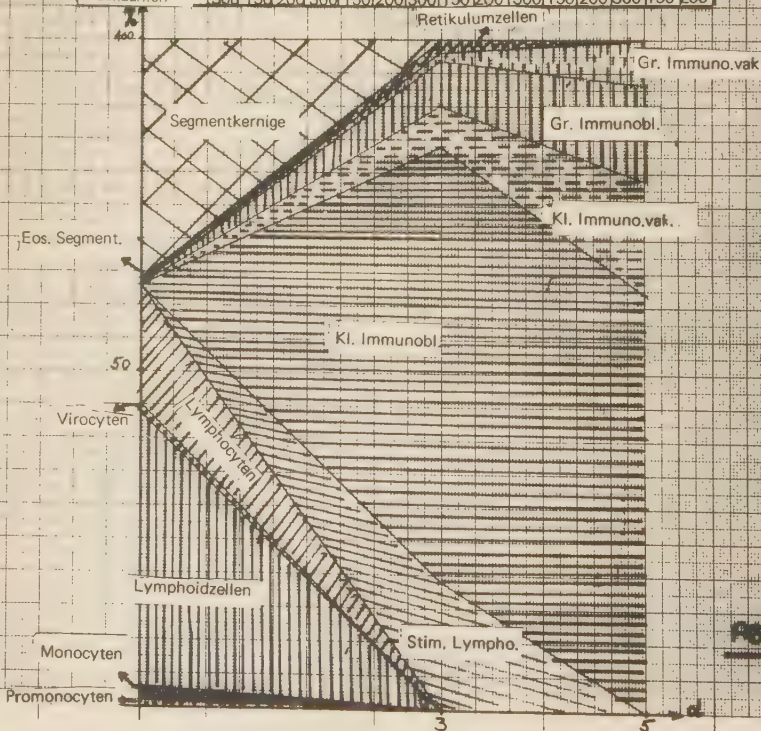
Bei den drei Versuchsreihen sind die absoluten Zellzahlen der jeweiligen Kulturtage 100% gleichgesetzt. Die Zellzahl nahm bis zum 3. Kulturtag bei allen Fällen stark ab, etwa auf 1/4 der Zellzahlen der Originalblutbilder.

Am 5. Kulturtag war bei der Versuchsreihe im akuten Stadium (I) ein Zuwachs der Zellen auf ein Doppeltes der Zellzahl des 3. Tages zu verzeichnen (Mitose-Index 9%). Bei den beiden anderen Kulturen war ein weiterer Abfall der Zellzahlen von etwa 10% und 20% der Zellzahlen des 3. Tages (Mitose-Index 5,0% bzw. 9,0%) zu vermerken.

Allen Versuchsreihen gemeinsam war ein Anstieg der Zellzahlen am 7. Tag der Kulturen. Diese Werte betrugen 40%, 15% bzw. 30% mehr als die am 5. Tag gefundenen Zellzahlen, und 65% mehr als am 3. Tag (I), bzw. erreichten wieder die Zellzahlen am 3. Tag (II und IIA).

Zellarten	%	PAS _I	E _I	SP _I	POX _I
Segmentkernige	36	295	15	4	208
Bas. Segmentk.	-	-	-	-	-
Eos. Segmentk.	1	200	-	-	200
Monocyten	2	100	100	⊖	-
Promonocyten	1	-	-	-	-
Lymphoidzellen	4	30	25	10	4
Lymphocyten	18	⊖	93	10	⊖
Virocyten	1	-	-	-	⊖
Stimulierte Lymphocyten	19	105	⊖	⊖	⊖
Kleine Immunoblasten	70	62	122	144	⊖
Kleine Immun. vakuolisiert	6	17	-	-	⊖
Große Immunoblasten	2	14	93	87	⊖
Große Immun. vakuolisiert	1	7	-	-	⊖
Retikulumzelle	2	-	⊖	⊖	⊖
Mitosen	1	-	-	-	-
2-kernige Zellen	1	-	-	-	-
Kulturtag	0 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3 5
Zellzahlen	300 150 200	300 150 200	300 150 200	300 150 200	300 150 200

Tab. IX



Tab. IX und Abb. VII: PO.BRIGITTE 17.12.71
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%			PAS _I			E _I			SP _I			POX _I		
Segmentkernige	27	-	-	300	-	-	7	-	-	13	-	-	20	-	-
Bas. Segmentk.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eos. Segmentk.	2	-	-	200	-	-	-	-	-	75	-	-	-	-	-
Monocyten	3	-	-	100	-	-	⊖	-	-	100	-	-	⊖	-	-
Promonocyten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lymphoidzellen	22	-	-	18	-	-	63	-	-	51	-	-	2	-	-
Lymphocyten	42	7	7	⊖	-	85	14	-	⊖	15	-	⊖	⊖	-	⊖
Virocyten	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	⊖	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	-	18	-	-	70	-	⊖	-	-	⊖	-	⊖	-	⊖	-
Kleine Immunoblasten	-	41	53	-	95	97	⊖	⊖	-	⊖	⊖	-	⊖	⊖	-
Kleine Immuno. vakuoliert	-	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Große Immunoblasten	-	14	45	-	60	70	⊖	⊖	-	⊖	⊖	-	⊖	⊖	-
Große Immuno. vakuoliert	-	6	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Retikulumzellen	-	9	45	-	4	-	⊖	-	-	⊖	-	-	⊖	-	-
Mitosen 2-kernige Zellen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulturtag	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5
Zellzahlen	300	300	200	300	300	200	300	300	200	300	300	200	300	300	200

TAB. X

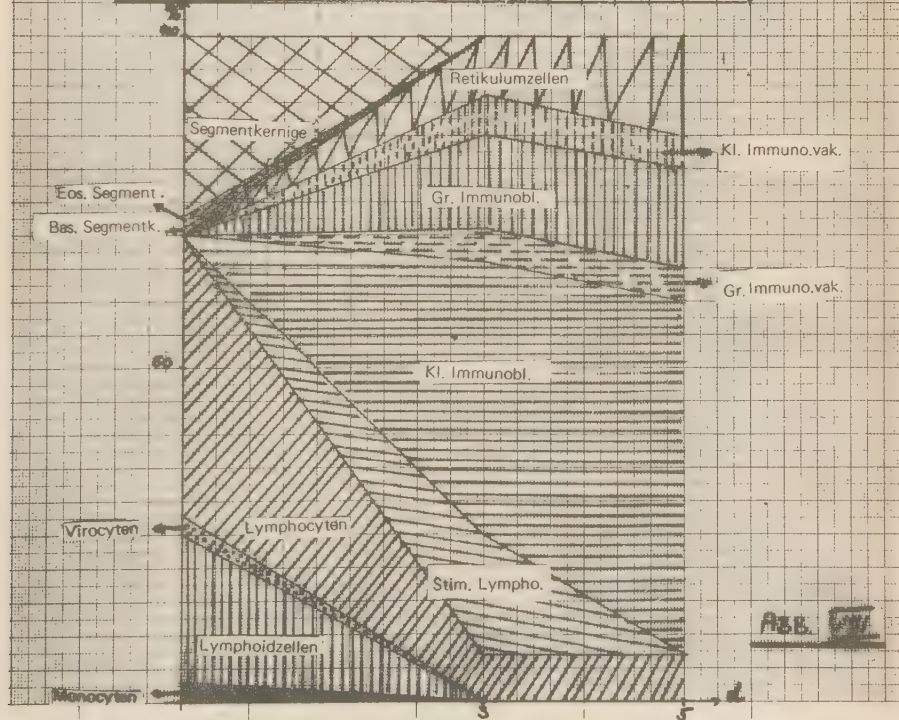


Abb. VII

Tab. X und Abb. VIII: PO. BRIGITTE 5.1.72
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%	PAS _I	E _I	SP _I	POX _I
Segmentkernige	10	300	8	0	28
Bas. Segmentk.	-	-	-	-	-
Eos. Segmentk.	-	-	-	-	-
Monocyten	4	0	-	0	25
Promonocyten	-	-	-	-	-
Lymphoidzellen	36	17	17	20	5
Lymphocyten	47	5	0	31	0
Virocyten	3	-	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	7	83	0	0	0
Kleine Immunoblasten	17.59	102.112	0	0	0
Kleine Immuno vakuollisiert	31.11	-	-	-	-
Große Immunoblasten	18.18	91.75	0	0	0
Große Immuno vakuollisiert	19.5	-	-	-	-
Retikulumzelle	8.2	7	0	0	0
Mitosen	2.1	-	-	-	-
2 kernige Zellen	5.1	-	-	-	-
Kulturtag	0 1 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3 5
Zellzahlen	340 300 300	340 300 340	340 300 300	340 800 800	340 300 800

TAB XI

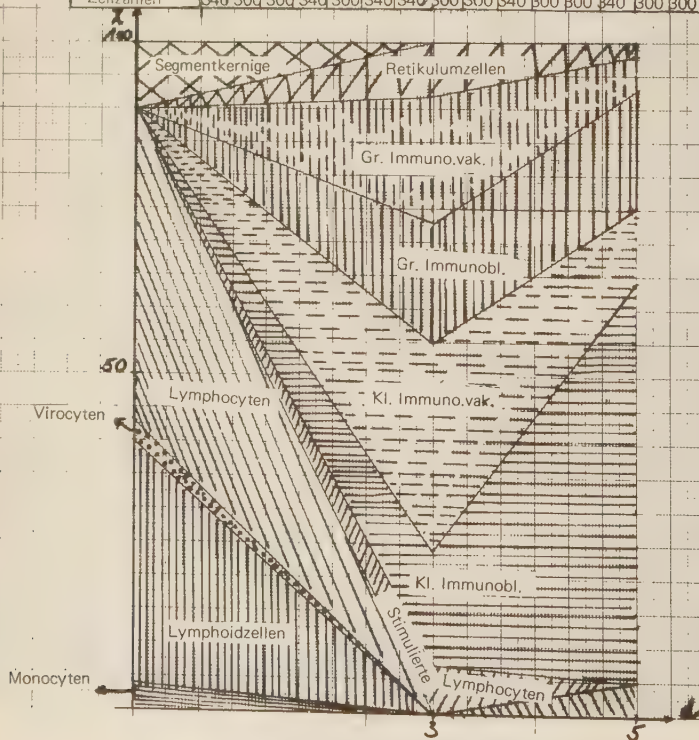


Abb IX

Tab. XI und Abb. IX: GI. BERND 25.11.71
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%	PAS _I	POX _I
Segmentkernige	42	286	292
Bas. Segmentk.	05	-	-
Eos. Segmentk.	05	200	200
Monocyten	05	100	-
Promonocyten	05	-	-
Lymphoidzellen	11	23	14
Lymphocyten	40	1 4	0
Virocyten	5	1	-
Stimulierte Lymphocyten	30	35	0
Kleine Immunoblasten	46	62	92
Kleine Immuno vakuoliert	10	1	-
Große Immunoblasten	1	16	95
Große Immuno vakuoliert	1	3	-
Retikulumzelle	10	14	0
Mitosen	16	-	-
2-kernige Zellen	8	1	-
Kulturtage	0 1 3 5	0 1 3 5	0 1 3 5
Zellzahlen	400 300 200	400 300 200	400 300 200

TAB. XII

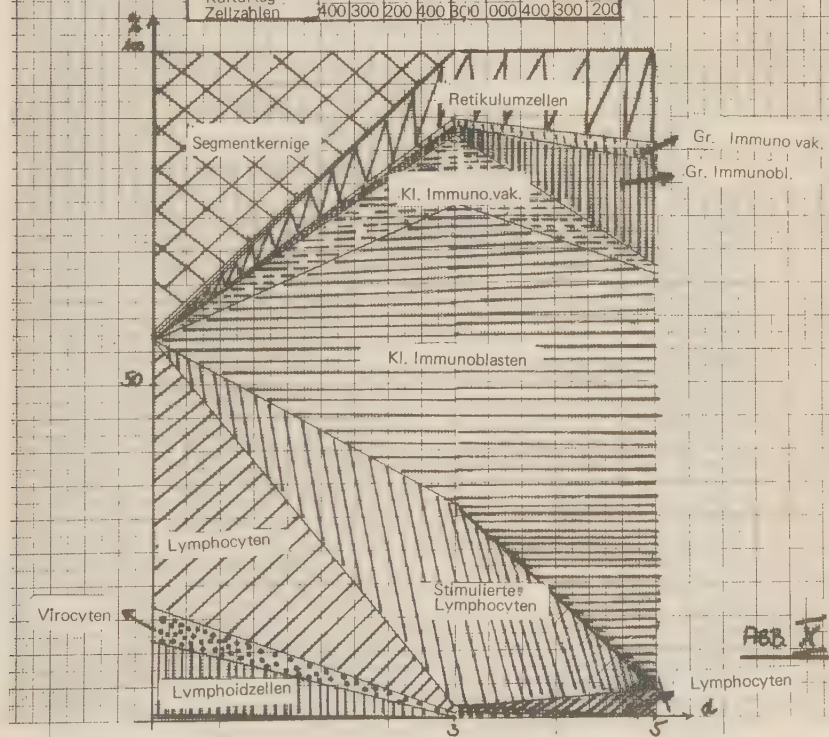


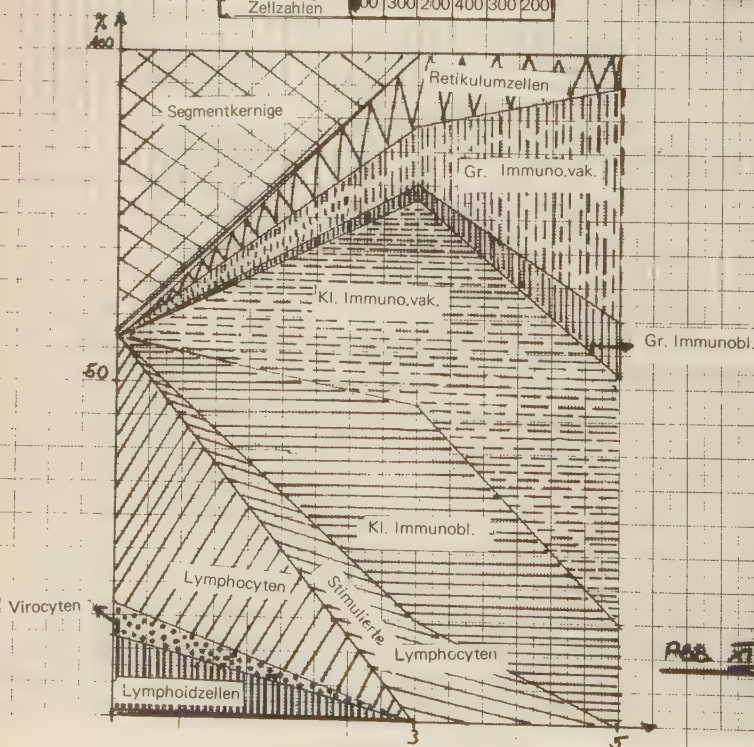
Abb. X

Tab. XII und Abb. X: G. BERND 16.12.71
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%	POX ₁
Segmentkernige	42	292
Bas. Segmentk.	0,5	-
Eos. Segmentk.	0,5	200
Monocyten	0,5	-
Promonocyten	0,5	-
Lymphoidzelle	11	14
Lymphocyten	40	⊖
Virocyten	5	-
Stimulierte Lymphocyten	15	⊖
Kleine Immunoblasten	32	15
Kleine immunvakuolisiert	31	37
Große Immunoblasten	2	8
Große immunvakuolisiert	9	35
Retikulumzellen	11	5
Mitosen	-	-
2-kernige Zellen	-	-
Kulturtag	0 3 5	0 3 5
Zellzahlen	100 300 200	400 300 200

- 40 -

Tab. XII



Tab. XI

Tab. XIII und Abb. XI: G. BERND 16.12.71
Kultur mit Nährlösung-Zusatz
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%	PAS _I	E _I
Segmentkernige	41 -	300 -	2 -
Bas. Segmentk.	-	-	-
Eos. Segmentk.	-	200 -	-
Monocyten	8 -	33 -	100 -
Promonocyten	-	-	-
Lymphoidzellen	31 -	12 -	11 -
Lymphocyten	20 7 0	-	27 -
Virocyten	-	-	-
Stimulierte Lymphocyten	- 14 -	80 -	0
Kleine Immunoblasten	- 60 -	105 -	0
Kleine Immuno. vakuolisiert	- 3 -	-	-
Große Immunoblasten	- 7 -	54 -	0
Große Immuno. vakuolisiert	- 3 -	-	-
Retikulumzellen	- 6 -	-	0
Mitosen	- 20 -	-	-
2-kernige Zellen	2 14 -	-	-
Kulturtag	0 1 3	0 3 0 3	0 3
Zellzahlen	310 145	310 200	310 200

TAB. XIV

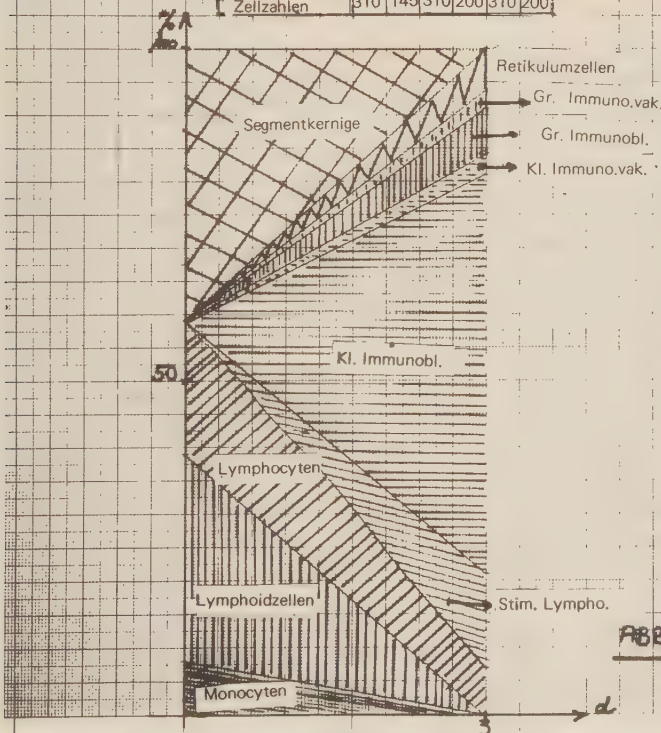


ABB. XII

Tab. IV und Abb. XII: SCHR. FRANK 11.8.71
 Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%
Segmentkernige	8 --
Bas. Segmentk.	-- --
Eos. Segmentk.	-- --
Monocyten	4 --
Promonocyten	2 --
Lymphoidzellen	63 --
Lymphocyten	19 6 6
Virocyten	4 --
Stimulierte Lymphocyten	-- 12 --
Kleine Immunoblasten	-- 37 42
Kleine Immuno. vakuolisiert	-- 15 18
Große Immunoblasten	-- 11 3
Große Immuno. vakuolisiert	-- 13 25
Retikulumzellen	-- 6 6
Mitosen	-- --
2-kernige Zellen	-- --
Kulturtag	0 3 5
Zellzahlen	300 200 200

TAB. XV

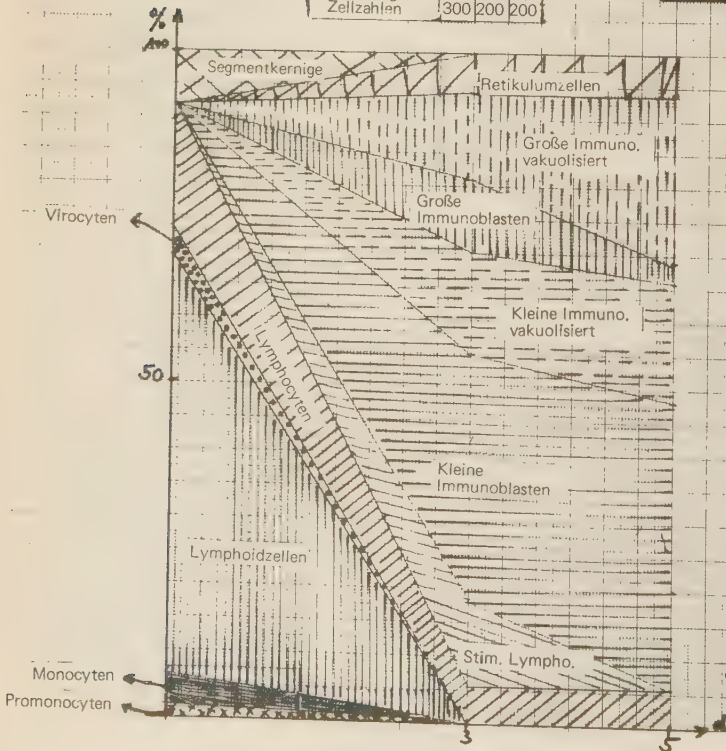
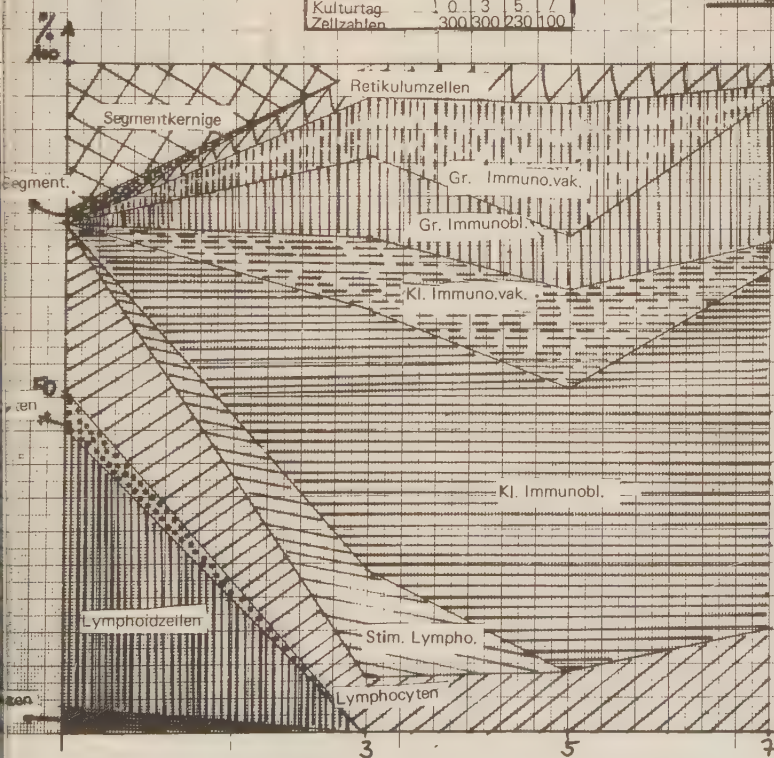


Abb. XV

Tab. XV und Abb. XIII: MÖ. IRENE 27.1.71
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

Zellarten	%
Segmentkernige	22
Bas. Segmentk.	—
Eos. Segmentk.	2
Monocyten	4
Promonocyten	—
Lymphoidzellen	41
Lymphocyten	25 8 9 15
Virocyten	6
Stimulierte Lymphocyten	— 16 —
Kleine Immunoblasten	— 39 42 54
Kleine Immuno. vakuolisiert	— 11 15 4
Große Immunoblasten	— 12 8 22
Große Immuno. vakuolisiert	— 9 20 2
Retikulumzellen	— 5 6 3
Mitosen	—
2-kernige Zellen	—
Kulturtag	0 3 5 7
Zellzahlen	300 300 230 100

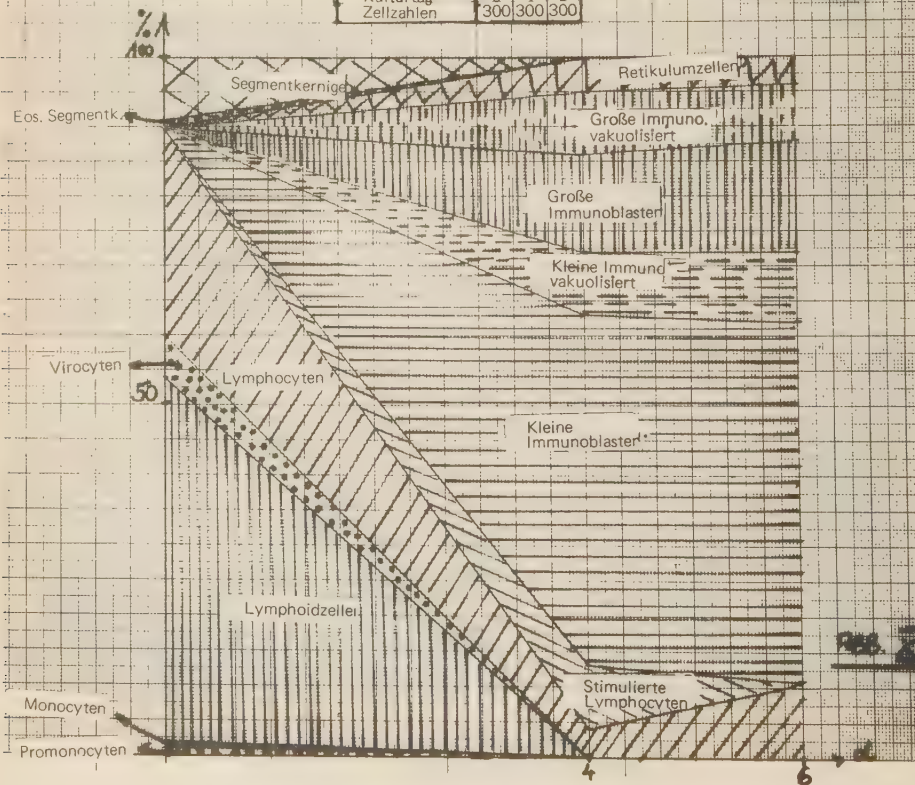
TAB. XVI



TAB. XVII

Zellarten	%		
Segmentkernige	9	—	—
Bas. Segmentk.	—	—	—
Eos. Segmentk.	1	—	—
Monocyten	1	—	—
Promonocyten	1	—	—
Lymphoidzellen	52	—	—
Lymphocyten	30	4	11
Virocyten	6	—	—
Stimulierte Lymphocyten	—	9	—
Kleine Immunoblasten	—	50	51
Kleine Immunovakuolisiert	—	9	10
Große Immunoblasten	—	14	16
Große Immunovakuolisiert	—	9	8
Retikulumzellen	—	5	4
Mitosen	—	—	—
2-kernige Zellen	—	—	—
Kulturtage	0	4	6
Zellzahlen	300	300	300

Tab. XVII



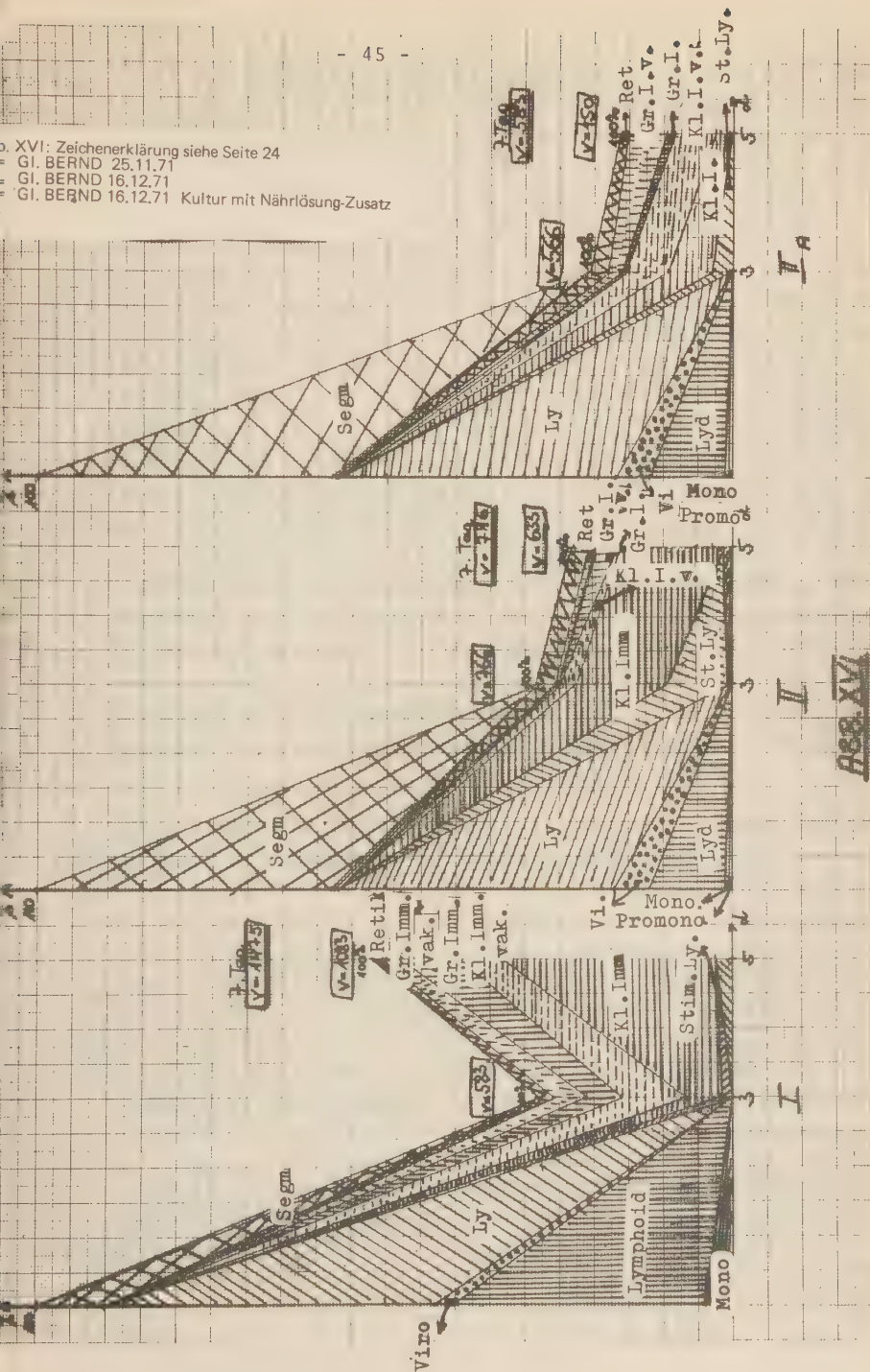
Tab. XVII und Abb. XV: PHI, DETLEF 30.9.69
Zeichenerklärung siehe Seite 18 und 19

o. XVI: Zeichenerklärung siehe Seite 24

GI. BERND 25.11.71

GI. BERND 16.12.71

GI. BERND 16.12.71 Kultur mit Nährlösung-Zusatz



Die Auswertung der cytochemischen Spezialfärbungen der Kulturen der Mononukleosefälle ergab:

Tab. IX-XIV (Seite 36-41) für die einzelnen Patienten

Tab. XVIII-XXI (Seite 48 und 49) für die Zusammenfassung der Mononukleosefälle und

Tab. XXIII (Seite 50) für die mittleren Indices.

Bei allen untersuchten Versuchen zeigten die neutrophilen und eosinophilen Segmentkernigen in den Originalausstrichen die höchste Aktivität bei der PAS- und POX-Färbung. Für die neutrophilen Segmentkernigen errechneten wir einen mittleren PAS-Index von 296 und einen mittleren POX-Index von 268. Die eosinophilen Segmentkernigen zeigten sowohl bei der PAS- wie auch bei der POX-Reaktion die Aktivitätsstufe 2. Für beide Spezialfärbungen gilt also der mittlere Index von 200. Bei den E- und SP-Färbungen fanden wir die neutrophilen Segmentkernigen von sehr schwacher Aktivität (2-15, bzw. 0-13), so daß sich hierfür mittlere Indices von 8 bzw. 6 errechnen ließen. Die eosinophilen Segmentkernigen fanden wir nur bei einem Fall (PO. (Tab. X, Seite 37)) um die Aktivitätsstufe 1 bei der SP-Färbung; dadurch ergibt sich der mittlere Index von 75, während bei allen Fällen der E-Reaktionen keine eosinophilen Segmentkernigen zu differenzieren waren.

Bei den Monocyten zeigten sich mit allen Färbeverfahren Aktivitäten. Folgende mittlere Indices für die einzelnen Reaktionen erhielten wir:

PAS = 66; E = 66; SP = 33; POX = 17.

Schwächere Aktivitäten zeigten die Lymphoidzellen bei allen Spezialfärbungen. Die mittleren Indices sind:

PAS = 20; E = 29; SP = 27; POX = 6.

Virocyten waren nur bei einem Fall (PO. (Tab. IX und X, Seite 36 und 37)) mit der POX-Färbung zu differenzieren, die aber ohne Aktivität waren.

Lymphocyten zeigten im Originalblutbild bei der PAS- und POX-Färbung keine Aktivitäten, bei der E- und SP-Färbung errechnen-

ten wir mittlere Indices von 17 bzw. 26. Bis zum 5. Tag verloren die Lymphocyten ihre Aktivität an Esterase und saurer Phosphatase. Am 5. Kulturtag beobachteten wir nur bei der PAS-Färbung Aktivitäten an Lymphocyten (85-93).

Die stimulierten Lymphocyten waren am 3. Tag der Kulturen nur mit der PAS-Färbung positiv (70-105). Bei allen anderen Färbungsverfahren waren sie ohne Aktivität.

Die Immunoblasten waren nur bei der PAS-Färbung positiv. Am 3. Kulturtag errechneten wir für die kleinen Immunoblasten einen mittleren Index von 103, für die großen 79; am 5. Tag 106 bzw. 78. Bei den anderen Färbungsverfahren zeigten die Immunoblasten beider Größenordnungen keine Aktivitäten.

In den Retikulumzellen fanden wir nur bei der PAS-Färbung minimale Aktivitäten (4-7), die anderen Spezialfärbungen zeigten für diese Zellart keine Aktivitäten.

Tab. XVIII-XXI: Indices aller Färbemethoden bei den Kulturen der Mononukleosefälle.

Zellarten	PO. BRIGITTE		GI. BERND		SCHR. F.
	17.12.71	5.1.72	25.11.71	16.12.71	11.8.71
Segmentkernige	285	300	300	286	300
Bas. Segmentk.	---	---	---	---	---
Eos. Segmentk.	200	200	---	200	200
Monocyten	100	100	0	100	23
Promonocyten	---	---	---	---	---
Lymphoidzellen	30	18	17	23	12
Lymphocyten	0	93	0	91	0
Virocyten	---	---	---	---	---
Stimulierte Lymphocyten	---	---	---	---	---
Kleine Immunoblasten	105	70	83	75	80
Kleine Immuno. vakuolisiert	102	95	102	92	105
Große Immunoblasten	---	---	---	---	---
Große immuno. vakuolisiert	93	60	91	95	54
Retikulumzellen	---	4	7	---	---
Kulturtag	0 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3	0 3

Tab. XVIII. PAS-Indices

Zellarten	PO. BRIGITTE		GI. BERND	SCHR. F.
	17.12.71	5.1.72	25.11.71	11.8.71
Segmentkernige	15	7	8	2
Bas. Segmentk.	---	---	---	---
Eos. Segmentk.	---	---	---	---
Monocyten	100	0	---	100
Promonocyten	---	---	---	---
Lymphoidzellen	25	63	17	11
Lymphocyten	10	14	18	27
Virocyten	---	---	---	---
Stimulierte Lymphocyten	0	0	0	0
Kleine Immunoblasten	0	0	0	0
Kleine Immuno. vakuolisiert	---	---	---	---
Große Immunoblasten	0	0	0	0
Große immuno. vakuolisiert	---	---	---	---
Retikulumzellen	0	0	0	0
Kulturtag	0 3 5	0 3 5	0 3 5	0 3

Tab. XIX. NA-Esterase-Indices

Zellarten	PO. BRIGITTE						GI. BERND					
	17.12.71			5.1.72			25.11.71					
Segmentkernige	4	—	—	13	—	—	⊖	—	—			
Bas. Segmentk.	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Eos. Segmentk.	—	—	—	25	—	—	—	—	—			
Monocyten	⊖	—	—	100	—	—	⊖	—	—			
Promonocyten	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Lymphoidzellen	10	—	—	51	—	—	20	—	—			
Lymphocyten	33	—	⊖	15	—	⊖	31	—	⊖			
Virocyten	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Stimulierte Lymphocyten	—	⊖	—	⊖	—	—	—	⊖	—			
Kleine Immunoblasten	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖			
Kleine Immuno. vakuoliert	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Große Immunoblasten	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖			
Große Immuno. vakuoliert	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Retikulumzellen	—	⊖	—	—	⊖	—	—	⊖	—			
Kulturtag	0	3	5	0	3	5	0	3	5			

Tab. XX: Saure Phosphatase-Indices

Zellarten	PO. BRIGITTE						GI. BERND						Nährlösung-Zusatz
	17.12.71			5.1.72			25.11.71			18.12.71			
Segmentkernige	206	—	—	20	—	—	284	—	—	292	—	—	
Bas. Segmentk.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Eos. Segmentk.	200	—	—	—	—	—	—	—	—	200	—	—	
Monocyten	—	—	⊖	—	—	—	25	—	—	—	—	—	
Promonocyten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Lymphoidzellen	4	—	—	2	—	—	5	—	—	14	—	—	
Lymphocyten	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	—
Virocyten	⊖	—	⊖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Stimulierte Lymphocyten	—	⊖	—	—	⊖	—	—	⊖	—	—	—	⊖	—
Kleine Immunoblasten	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—
Kleine Immuno. vakuoliert	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Große Immunoblasten	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖	⊖	—
Große Immuno. vakuoliert	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Retikulumzellen	—	⊖	—	—	⊖	—	—	⊖	—	—	⊖	—	
Kulturtag	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5	

Tab. XXI: Peroxydase-Indices

Tab. XXII: Kontrollkulturen

Zellarten	%				PAS _I			E _I			SP _I			POX _I		
Segmentkernige	46	—	—	—	28	—	—	11	—	—	11	—	—	22	—	—
Bas. Segmentk.	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Eos. Segmentk.	5	—	—	—	20	—	—	20	—	—	—	—	—	20	—	—
Monocyten	1	—	—	—	0	—	—	23	—	—	—	—	—	—	—	—
Promonocyten	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lymphoidzellen	9	—	—	—	12	—	—	19	—	—	8	—	—	5	—	—
Lymphocyten	35	5	5	13	0	—	98	4	—	—	8	—	0	0	—	0
Virocyten	2	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	—
Stimulierte Lymphocyten	—	18	—	—	72	—	—	0	0	—	0	—	—	0	0	—
Kleine Immunoblasten	—	41	51	62	—	98	100	—	0	0	—	0	0	—	0	0
Kleine Immuno. vakuoliert	—	5	9	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Große Immunoblasten	—	14	21	12	—	84	74	—	0	0	—	0	0	—	0	0
Große Immuno. vakuoliert	—	6	8	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Retikulumzeller	—	11	6	6	—	16	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—
Kulturtag	0	3	5	7	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5

Tab. XXII und XXIII: Aus den einzelnen Werten der Kontrollkulturen und Kulturen der Mononukleosefälle (siehe auch Tab. V-VIII, Seite 28 und 29 sowie Tab. XVIII-XXI, Seite 48 und 49) wurden für alle Kultur-tage die Mittelwerte der prozentualen Verteilungen und die mittleren Indices der verschiedenen Färbemethoden errechnet.

PAS_I = PAS-Indices; E_I = α-NA-Esterase-Indices;

SP_I = saure Phosphatase-Indices; POX_I = Peroxydase-Indices.

Tab. XXIII: Mononukleosekulturen

Zellarten	%				PAS _I			E _I			SP _I			POX _I		
Segmentkernige	21	—	—	—	26	—	—	8	—	—	6	—	—	22	—	—
Bas. Segmentk.	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Eos. Segmentk.	1	—	—	—	200	—	—	—	—	—	25	—	—	20	—	—
Monocyten	3	—	—	—	66	—	—	66	—	—	33	—	—	17	—	—
Promonocyten	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lymphoidzellen	37	—	—	—	20	—	—	29	—	—	27	—	—	6	—	—
Lymphocyten	32	5	7	15	0	—	89	12	—	0	26	—	0	0	—	0
Virocyten	4	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	—
Stimulierte Lymphocyten	—	17	—	—	82	—	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—
Kleine Immunoblasten	—	42	53	54	—	103	106	—	0	0	—	0	0	—	0	0
Kleine Immuno. vakuoliert	—	12	11	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Große Immunoblasten	—	10	13	22	—	79	78	—	0	0	—	0	0	—	0	0
Große Immuno. vakuoliert	—	7	11	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Retikulumzellen	—	6	5	3	—	5	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—
Kulturtag	0	3	5	7	0	3	5	0	3	5	0	3	5	0	3	5

Z U S A M M E N F A S S U N G D E R E R G E B N I S S E U N D D I S K U S S I O N

Aufgrund unserer Ergebnisse nehmen wir zu den in der Einleitung gestellten Fragen wie folgt Stellung:

1. Wie verhalten sich die Lymphoidzellen cytochemisch?

Bei unseren Kontrollfällen, die von nicht an Mononukleose erkrankten Patienten gewonnenen Kulturen waren, beobachteten wir in den Originalblutbildern 7% - 10% Lymphoidzellen. Von den 3. Kulturtagen an fanden wir in keinem der Fälle Lymphoidzellen mehr.

Die Originalblutbilder der infektiösen Mononukleose-Patienten zeigten hohe Prozentzahlen der Lymphoidzellen. Im akuten Stadium der Krankheit sahen wir die Drüsenfieberzellen bis zu 63%. Wie am 3. Tag der Kulturen der "Normalfälle", waren bei Kulturen der Mononukleose-Patienten ebenfalls keine Lymphoidzellen zu beobachten.

Während in den Lymphoidzellen von SCHMALZL, CIRESA und BRAUN-STEINER (35) saure Phosphatase reichlich, α -Naphthylacetat-Esterase, Peroxydase und PAS-positive Substanzen in geringen Mengen nachgewiesen werden konnten, zeigen die von uns errechneten Indices für alle Färbeverfahren nur schwache Aktivitäten: Sowohl bei den Blutbildern der Mononukleose-Patienten als auch bei den Blutbildern der Kontrollfälle blieben die Indices unter 30, lagen aber bei den Mononukleose-Patienten etwas höher.

Die sehr unterschiedliche Verteilung der Lymphoidzellen am Tag der Blutentnahme bei beiden Patientenkreisen, und die Tatsache, daß diese Zellart an den 3. Kulturtagen in den Ausstrichen sowohl bei den "Normalfällen" wie auch bei den Kulturen von Pfeiffer-Kranken völlig fehlt, wirft die nächste Frage auf:

2. Liegen Unterschiede bei der PHA-Stimulierung von Blutkulturen der Mononukleose-Patienten im Gegensatz zu anderen Blutkulturen vor?

Wir fanden bei beiden Kulturreihen an den 3. Kulturtagen annähernd die gleiche Verteilung der verschiedenen Zellarten. Lediglich die verschiedenen Formen der Immunoblasten wechsel-

ten etwas ihre prozentuale Teilnahme an der Gesamtzellzahl. Im Durchschnitt fanden wir 66% - 71% Immunoblasten, 18% stimulierte Lymphocyten, 5% Lymphocyten und 6% - 11% Retikulumzellen ohne Rücksicht auf die Zugehörigkeit der von den beiden Patientenkreisen gewonnenen Kulturen zur klinischen Diagnose. Am 5. Tag der Kulturen änderte sich die Zellverteilung nur insofern, daß die stimulierten Lymphocyten nicht mehr zu finden waren; etwa um deren Prozentsatz erhöhte sich die Zahl der Immunoblasten auf 80% - 85%, während die Lymphocyten ihre Anzahl behielten und die Retikulumzellen sich um wenige Prozente veränderten. In den beiden Fällen, bei denen wir Kulturen von einem Mononukleose-Patienten und von einem "Normalfall" bis zum 7. Tag beobachten konnten, fand sich übereinstimmend, daß die Lymphocyten auf Kosten der Immunoblasten wieder auf 13% und 15% anstiegen.

Untersuchungen von AMBS, ASTALDI und FISCHER und GROPP (1, 3, 16) ergaben, daß die Transformation der kleinen Lymphocyten zu blastenartigen Zellen von rascher mitotischer Tätigkeit gefolgt ist.

Wir beobachteten selten Mitosen, pro Präparat waren höchstens 2 Zellteilungen zu finden. Umgerechnet auf die gesamte Blastenzahl erhielten wir für die Kulturen der Mononukleose-Patienten einen mittleren Mitose-Index von 5,6% (0-18%), für die "Normalfälle" 7,7% (0-14,8%). Bemerkenswert ist, daß wir Mitosen ausschließlich am 3. Tag der Kulturen beobachteten, am 5. Tag keine einzige.

Die absoluten Zellzählungen (Abb. V, VI und XVI, Seite 24, 25 und 45) ergaben, daß (wieder ohne Unterschiede bei beiden Kulturreihen) die in Kultur gesetzte Zellzahl am 3. Tag auf etwa $1/5 - 1/10$ sinkt, dann erfolgt ein langsames Ansteigen der Zellzahlen teils schon am 5. Tag, meistens aber erst am 7. Tag.

Abgesehen von den relativ wenigen Mitosen fanden wir also in sämtlichen Fällen eine Bestätigung von den Ergebnissen früher beschriebener Zellverteilungen (1, 21) in den durch PHA stimulierten Kulturen.

Wir fanden aber keine wesentlichen Unterschiede in den prozentualen Zusammensetzungen zwischen Kulturen von Mononukleose-

Patienten und Kulturen von "Normalfällen". Das Gegenteil war der Fall: Wir beobachteten, daß die Zellverteilungen bei beiden Kulturreihen weitgehend übereinstimmten (Tab. XXII und XXIII, Seite 50).

3. Wie verhalten sich die durch Phytohämagglutinin stimulierten Kulturen der Mononukleose-Patienten cytochemisch im Vergleich zu denen mit normalen Lymphocyten?

Vergleichen wir unsere cytochemischen Ergebnisse (Tab. XXII und XXIII, Seite 50) mit früheren Untersuchungen, so ergeben sich schon beim Betrachten der Auswertung der Originalblutbilder deutliche Unterschiede.

Untersuchungen an Knochenmarkausstrichen (BOLL (8)) ergaben, daß die Lymphocyten geringfügig PAS-positiv (Index: 13), POX-negativ, schwach saure Phosphatase-positiv (Index: 46) sind, und ein α -NA-Esterase-Index von 123 haben. ASTALDI (3) beschreibt, daß es auffallende Unterschiede gibt, wenn beim Esterase-Nachweis der Blutleukocyten verschiedene Substanzen verwendet werden. Er fand außerdem hohe saure Phosphatase-Aktivitäten in Lymphocyten und Lymphoidzellen, keine POX-Reaktion und geringe PAS-positive Substanzen in den Lymphocyten.

Monocyten fanden verschiedene Autoren (8, 19, 31, 35) stark positiv mit der sauren Phosphatase- und α -NA-Esterase-Reaktion, schwach positiv mit der PAS-Färbung.

Vergleich der mittleren Indices bei Untersuchungen an Knochenmarkausstrichen (KmA) (BOLL (8)) und Blutausstrichen (B1A), "Normalfälle" (N), Mononukleosefälle (M):

Zellart	PAS-Index			E-Index			SP-Index			POX-Index		
	KmA	B1A N M		KmA	B1A N M		KmA	B1A N M		KmA	B1A N M	
Segmentkern.	223	286	296	102	11	8	103	11	6	260	270	268
Lymphocyt.	13	0	0	132	4	17	46	8	26	0	0	0
Monocyt.	-	0	66	399	123	66	-	-	36	-	-	17

Wir fanden die Monocyten bei der α -NA-Esterase-Reaktion weniger positiv, errechneten bei den "Normalfällen" einen

mittleren Index von 123, bei den Kulturen der Mononukleose-Patienten nur 66. Während wir die Monocyten bei der PAS-Reaktion in den "Normalkulturen" ohne Aktivität fanden und bei der SP- und POX-Färbung keine Monocyten zu differenzieren waren, zeigten sie in den Kulturen der Mononukleose-Patienten bei allen Färbeverfahren geringe Aktivitäten.

Die Enzymausstattung der Lymphocyten war von besonderem Interesse, da sich die in den Kulturen entstandenen Zellen aus den Lymphocyten entwickeln. Die PAS- und POX-Reaktion fiel in allen Blutbildern negativ aus. Bei der E- und SP-Färbung zeigten die Lymphocyten schwache Aktivitäten: in den "Normalkulturen" 4 und 8, in den Mononukleose-Kulturen 17 und 26.

FISCHER und GROPP (16, 18, 19) fanden bei der Umwandlung kleiner Lymphocyten zu blastenartigen Zellen eine Zunahme der sauren Phosphatase (Metallsalzmethode nach GOMORI). Ähnliche Aktivitätsverteilung war bei NaF-resistenter Esterase nachzuweisen (20). Bei der Azofarbstoffmethode nach BARKA und ANDERSON zeigten aber die Blasten nur negativ bis schwach positive Reaktionen mit der SP-Reaktion; nur vereinzelt waren Zellen stark positiv. Dieselben Autoren fanden keine PAS-positiven Substanzen in den "großen basophilen Zellen" in der Kultur (16, 18, 19).

Wir beobachteten bei den Immunoblasten wie bei den Lymphocyten keinerlei Enzymaktivitäten bei den E-, SP- und POX-Färbungen weder in den Kulturen der "Normalfälle" noch in den Kulturen der Mononukleose-Patienten. Somit konnten wir die von FISCHER und GROPP beobachteten und auch von ROSENSZAJN und FISCHER (32) beschriebenen Zunahmen der E- und SP-Aktivitäten nicht bestätigen.

Weitgehend übereinstimmend fanden wir aber bei allen Kulturen von beiden Patientenkreisen die PAS-positiven Substanzen für die stimulierten Lymphocyten, Immunoblasten, Retikulumzellen und Lymphocyten.

Die Transformation der Lymphocyten verläuft unter Zunahme der Glykolyse und der Zellatmung (1). So ist es erklärlich, daß die Lymphocyten, die in den Originalblutbildern bei der PAS-Reaktion negativ waren, im Laufe der Umwandlung an PAS-positiven Substanzen zunehmen und die stimulierten Lymphocyten und

Blasten PAS-Indices um 100 zeigten.

Bemerkenswert war, daß wir am 3. Tag der Kulturen entstandene Retikulumzellen PAS-positiv fanden. Diese Tatsache gibt Anlaß zur Diskussion, ob die Retikulumzellen während der Kulturzeit aus Lymphocyten entstanden sind. Damit wäre ein weiterer Beweis zu der alten Theorie von MAXIMOW geliefert, nach der der Lymphocyt des Menschen keineswegs eine ausgereifte Endzelle darstellt, sondern zu weiteren Umwandlungen, nicht nur zum Immunoblast, sondern möglicherweise auch zu einer Stammzelle des Knochenmarks fähig ist.

4. Läßt sich eine Stimulierbarkeit der Lymphoidzellen durch PHA aus den Befunden wahrscheinlich machen?

Die Frage, welche Zellen eigentlich zur Transformation befähigt sind, gibt Anlaß zur Diskussion.

Mehrfache Untersuchungen von ASTALDI, ELVES, CARSTAIRS u. a. sprechen für die Annahme, daß es sich in der PHA-Kultur um eine Umwandlung nur der kleinen Lymphocyten (und nicht auch andere Zellen) zu den stimulierten blastenartigen Zellformen handelt. In reinen Lymphocytenkulturen wurde parallel mit dem Absinken der kleinen Lymphocyten das Auftreten großer, blastenartiger Zellen beobachtet (1, 16).

Wir fanden in den Kulturen am 3. Tag auch wenige unverändert gebliebene kleine Lymphocyten. "Diese Tatsache würde mit der Behauptung über das Vorhandensein von zwei verschiedenen Lymphocyten-Populationen im Blut übereinstimmen ..., die eine mit der Möglichkeit zur Entwicklung zu Immunoblast und die andere, die endgültig ausgereift ist." (2)

Es wurde von mehreren Autoren beschrieben (ASTALDI (3), FISCHER und GROPP (17) und PEARMAIN und LYCETTE sowie LENNERT (26)), daß die atypischen Lymphocyten (Lymphoidzellen) der infektiösen Mononukleose-Kranken und die in deren Blutkulturen ohne PHA-Zusatz entstandenen blastenartigen Zellen große Ähnlichkeiten besitzen mit den Blasten in den Kulturen mit PHA-Zusatz. SCHINZ findet in unserer Parallelserie jedoch nur geringe morphologische Ähnlichkeiten (34).

Es liegt die Vermutung nahe, daß in den mit PHA-Zusatz gezüchteten Blutkulturen neben den aus den Lymphocyten entstan-

denen Blasten zusätzlich Blasten aus Lymphoidzellen entstehen, denen schon in vivo eine aktivere DNS-Synthese und höhere Proliferationsintensität als den Lymphocyten nachgewiesen wurde (3, 6, 11), wenn auch RUBIN (27) eine toxische Wirkung des PHA auf Lymphoidzellen nachgewiesen hat.

Von uns läßt sich die obige Vermutung, daß in den Kulturen Blasten zusätzlich aus Lymphoidzellen entstehen, nicht bestätigen, denn wir beobachteten annähernd die gleichen Prozentzahlen in der Verteilung der Blasten in den Kulturen sowohl von Mononukleose-Patienten als auch in den Kulturen der Kontrollfälle, obwohl in den Originalausstrichen der Mononukleosefälle bis zu 63% Lymphoidzellen zu finden waren, im Gegensatz zu dem niedrigen Prozentsatz bei den Kontrollfällen (7% - 10%).

Durch den PHA-Zusatz sind also nur die Lymphocyten zur Transformation befähigt worden, so daß wir beim Züchten der Blutkulturen von Mononukleose-Patienten praktisch Blutkulturen von "Normalfällen" vor uns finden. Auch die Frage, ob vielleicht die absoluten Lymphocytenzahlen im Verhältnis zu den absoluten "Blasten"-Zahlen einen Unterschied zwischen beiden Versuchsreihen ergibt, läßt sich nach den Abb. V, VI und XIV (Seite 24, 25 und 45) mit Nein beantworten. Weiterhin ist aus den Tabellen XXII und XXIII (Seite 50) ersichtlich, daß die mittleren prozentualen Verteilungen mit minimalen Differenzen gleich sind:

3. KULTURTAG:	LYMPHOCYTEN	STIMULIERTE LYMPHOCYTEN	IMMUNOBLASTEN
KONTROLLFÄLLE:	35%	18%	66%
MONONUKLEOSE- FÄLLE:	32%	17%	71%

Auch nach unseren cytochemischen Untersuchungen ergaben sich in den mittleren Indices der Färbemethoden keine nennenswerten Unterschiede zwischen beiden Versuchsreihen (Tab. XXII und XXIII, Seite 50).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurden Blutkulturen mit Phytohämagglutinin-Zusatz von 5 Mononukleose-Patienten untersucht. Bei 3 von diesen Patienten wurde der Krankheitsverlauf verfolgt. Parallel zu diesen Versuchen wurden Phytohämagglutinkulturen von 4 Kontrollfällen zum Vergleich herangezogen.

Ziel unserer Untersuchungen war, das Verhalten der Lymphoidzellen zu erforschen.

Nach der Auswertung der prozentualen Zellverteilungen, der absoluten Zellzählungen sowie cytochemischen Untersuchungen mit spezifischen Färbemethoden (PAS, ~~α~~-Naphthylacetat-Esterase, saure Phosphatase und Peroxydase) ließ sich eine Stimulierbarkeit der Lymphoidzellen unwahrscheinlich machen.

Beim Vergleich aller Befunde ergibt sich eine erstaunliche Übereinstimmung sowohl der prozentualen Zellverteilungen wie auch der mittleren Indices der verschiedenen Spezialfärbungen bei beiden Versuchsreihen (Tab. XXII und XXIII, Seite 50). Dabei stimmen unsere Ergebnisse mit früher beschriebenen (1, 21) prozentualen Zellverteilungen überein, während wir die Zunahme der SP- und E-Aktivitäten bei Immunoblasten (16, 18, 19, 32) nicht bestätigen konnten. Im Laufe der Kultur beobachteten wir keine Aktivitäten mit den SP-, E- und POX-Färbungen. Lediglich PAS-positive Substanzen waren um die Aktivitätsstufe 1 nachweisbar.

In einem Nebenversuch bei der Blutkultur von einem Mononukleose-Patienten mit Vitamin-Glucose-Zusatz zeigte sich im Vergleich zu den anderen Kulturen eine Zunahme der vakuolisierten Formen der Immunoblasten.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

L I T E R A T U R A N G A B E N

1. Ambs, E.: Die Lymphocytenkultur und ihre Beziehung
zu klinischen Problemen
Klin. Wschr. 47, 15: 789 (1969)
2. Astaldi, G.: Das Phytohämagglutinin und das Problem des
Lymphocyten
Med. Klin. 59, 10: 368 (1964)
3. Astaldi, G., J. Lisiewicz: Lymphocytes
Biomedical Idelson English Edition
Naples 1971
4. Begemann, H.: Klinische Hämatologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1970
5. Begemann, H., H. Rastetter und U. Fink:
Zur Klassifizierung der Lymphocyten
Med. Klin. 17: 706 (1963)
6. Bock, H. E., K. Wilms und W. Wilmans:
Infektiöse Mononukleose
Dtsch. Med. Wschr. 95, 14: 748 (1970)
7. Boll, I.: Morphologische Studien zum Verhalten von
Knochenmarkzellen in vitro
Granuloblastenmitosen
Folia haemat. 31: 78 (1958)
8. Boll, I.: Quantitative Ermittlungen des Fermentgehal-
tes und der PAS-positiven Substanzen von
Knochenmarkzellen in vivo und vitro
Klin. Wschr. 48, 20: 1223 (1970)
9. Boll, I.: Leukocytenmorphologie und ihre diagnosti-
sche Bedeutung
Dtsch. Med. Journal 22: 760 (1971)
10. Boll, I.: Bewegungsstudien an nicht stimulierten und
stimulierten Lymphocyten sowie Retothel-
sarkomzellen
Sonderdruck aus: Leukocytenkulturen.
Verhandlungsbericht der II. Arbeitstagung
über Leukocytenkulturen
Essen 17. und 18. April 1970
11. Boll, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und
pathologischen Bedingungen
Berlin-Heidelberg-New York Springer 1965
12. Brittinger, G., E. König, G. Cohnen und H. G. Aberle:
Lysosomale Enzyme im Lymphocyten
Acta haem. 44: 205 (1970)
13. Brüchner, H.: Methoden der Leukocytenuntersuchung
Dtsch. Med. Journal 22: 758 (1971)

14. Cooper, E. H., A. J. Hale, and J. D. Milton:
The Proliferation of Infectious Mono-
nucleosis Lymphocytes in vitro
Acta haem. 38: 19 (1967)
15. Fichtelius, K. E.: Neue Untersuchungen zum Verständnis der
Lymphocytenfunktion
Schw. Med. Wschr. 40: 1181 (1961)
16. Fischer, R., A. Gropp: Untersuchungen zur Phytohämagglutinin-
stimulierten Umwandlung von menschlichen
Blutlymphocyten zu blastenartigen Zellen
Virch. Arch. path. Anat. 338: 64 (1964)
17. Fischer, R., A. Gropp: Ergebnisse der Züchtung von
Lymphocyten in vitro
Klin. Wschr. 44, 12: 665 (1966)
18. Fischer, R., A. Gropp: Cytologische und cytochemische Unter-
suchungen an normalen und leukämischen in
vitro gezüchteten Blutzellen
Klin. Wschr. 42, 3: 111 (1964)
19. Fischer, R., A. Gropp: Cytochemie des Lymphocyten in vitro
Klin. Wschr. 44, 13: 733 (1966)
20. Fischer, R., F. Schmalz: Über die Hemmbarkeit der Esterase-
aktivität in Blutmonocyten durch Natrium-
fluorid
Klin. Wschr. 42, 15: 751 (1964)
21. Fließner, T. M., V. Kretschmer, M. Hillen und F. Wendt:
DNS- und RNS-Synthese in mit Phytohämaggluti-
ninstimulierten Lymphocyten
Schw. Med. Wschr. 44: 1499 (1966)
22. Grundmann, F.: Zur Morphologie der Lymphocyten
Schw. Med. Wschr. 40: 1186 (1961)
23. Hertl, M.: Einführung in die Zytochemie
Fortschr. Med. 83, 3: 91 (1965)
24. Jorke, D.: Die Lymphoidzellen
Diss. Jena 1961
25. Jorke, D.: Neue Befunde an Lymphoidzellen
Med. Klin. 61, 7: 245 (1966)
26. Lennert, K.: Bildung und Differenzierung der Blutzellen,
insbesondere der Lymphocyten
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 50. Tagung
Heidelberg
Fischer Verlag Stuttgart 1966
27. Ling, N. R.: Lymphocyte Stimulation
North-Holland Publishing Company
Amsterdam-London 1971

28. Lust, Pfandler, Husler: Krankheiten des Kindesalters
Urban und Schwarzenberg
München-Berlin-Wien 1971
29. Märki, H. H.: Zur Regulierung der Lymphocytenzahl im Blut
Schw. Med. Wschr. 40: 1189 (1961)
30. Nowell, P. C.: Phytohemagglutinin: An Initiator of Mitosis in Cultures of Normal Human Leukocytes
Cancer Research 20, 4: 462 (1960)
31. Pietschmann, H., G. Rothenburger, D. Ulrich, P. Holzhey: Zytochemische Untersuchungen von Leukocytenkulturen
Wiener Zeitschr. f. inn. Med. 50, 8: 360 (1969)
32. Rosenszajn, L. A., and D. Fischer: Enzymatic and Chemical Changes in Human Lymphocyte Cultures
Acta haem. 42: 138 (1969)
33. Riesen, I. von, M. Albrecht: Einführung in die Zelldiagnostik des menschlichen Knochenmarkes und Blutes
Walter de Gruyter & Co. 1957
34. Schinz, F. W.: Cytochemische Untersuchungen an Blutkulturen von Mononukleose-Patienten
Diss. Berlin 1973
35. Schmalzl, F., M. Ciresa, H. Braunsteiner: Zur Zytochemie der Drüsenfieberzellen
Acta haem. 39, 5: 257 (1968)
36. Seitz, W.: Taschenbuch der inneren Medizin
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH
Stuttgart 1968
37. Stobbe, H.: Hämatologischer Atlas
Akademie Verlag Leipzig 1970

Frau Professor Dr. med. I. Boll schulde ich Dank
für die Leitung der Arbeit und die Hilfe an den
entscheidenden Punkten.

L E B E N S L A U F

Am 26. November 1946 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Laszlo K a i n und seiner Ehefrau Ilona K a i n geb. T a b a k in Budapest geboren. Ich besuchte die Grundschule und Gymnasium in Budapest. Im Juli 1965 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Im Herbst 1966 siedelte meine Familie nach West-Berlin über. Hier begann ich im Wintersemester 1967/68 das Studium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin. Im Oktober 1968 bestand ich das Vorphysikum und im April 1970 das Physikum. Meine klinischen Studien beschloß ich im Dezember 1972 mit dem Staatsexamen an der Freien Universität Berlin.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin

- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31

